



HELSINGIN YLIOPISTO
HELSINGFORS UNIVERSITET
UNIVERSITY OF HELSINKI

RAVINTOAINEPITOISUUDET ATOOPPISILLA JA TERVEILLÄ SEKÄ RAAKA- JA KUIVARUOKAA SYÖVILLÄ KOIRILLA

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Annu Ristimäki

Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto

Pieneläinten sairaudet

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto

Ohjaaja Anna Hielm-Björkman

2015



HELSINGIN YLIOPISTO

HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta - Fakultet
Eläinlääketieteellinen tiedekuntaOsasto - Avdelning – Department
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osastoTekijä - Författare – Author
Annu RistimäkiTyön nimi - Arbetets titel – Title
Ravintoainepitoisuudet atooppisilla ja terveillä sekä raaka- ja kuivaruokaa syövillä koirillaOppiaine - Läroämne – Subject
Pieneläinten sairaudet

Työn laji - Arbetets art – Level

Aika - Datum – Month and year

Sivumäärä - Sidoantal – Number of pages

Lisensiaatin tutkielma

1/2015

40

Tiivistelmä - Referat – Abstract

Koirien atooppinen dermatiitti eli atopia on tulehduksellinen ja kutiseva allerginen ihosairaus, jonka puhkeamiseen vaikuttavat nykyäsityksen mukaan sekä geenit että ympäristötekijät. Atopia vaijaa jopa noin 10 prosenttia koirista aiheuttaen koirille kutinaa ja sekundäärisiä ihotulehduksia. Atopian hoito on pitkäjänteistä ja usein elinikäistä, ja sairaus vaikuttaa koirien elämänlaatuun. Atopian syntymekanismia ja taustatekijöitä ymmärretään edelleen huonosti. Tämän lisensiaatin tutkimuksen tarkoituksena on koota yhteen ja saada lisää tietoa eri ravintoaineiden ja atopian välisestä yhteydestä. Tutkimus vertailee atooppisten ja terveiden koirien veren ravintoainepitoisuuksia. Samalla tarkastellaan ruokavalion vaikutusta veren ravintoainepitoisuuksiin. Hypoteesina on, että veren ravintoainepitoisuuksista löytyy eroa atooppisten ja terveiden sekä erilaista ruokaa syövien koirien väliltä.

Tutkimus suoritettiin poikittaisena pilottitutkimuksena Helsingissä Yliopistollisessa eläinsairaalassa vuonna 2013 osana staffordshirenbulldogien atopia- ja allergiatutkimusta. Tutkimukseen osallistui 26 atopiaa sairastavaa staffordshirenbulldogia ja kontrolliryhmään 10 tervettä staffordshirenbulldogia. Lisäksi kontrolliryhmään hyödynnettiin aiemmin toista tutkimusta varten otetut näytteet kahdeksasta terveestä pitkäkarvaisesta colliesta ja viidestä sileäkarvaisesta noutajasta. Tutkimukseen osallistuvilla koirilla tehtiin kliininen yleistutkimus sekä dermatologinen tutkimus. Koirista otettiin verinäytteet ravintoaineiden tutkimusta varten. Sairailla koirilla aloitettiin käynnin jälkeen 8 viikkoa kestävä eliminaatiodieetti selvän ruoka-aineallergian poissulkemiseksi. Lisäksi koirat saivat ulkoloishäädön. Omistajilta kysyttiin lomakkeen avulla tietoja koirien iho- ja ruuansulatuskanavaoireista, kutinan voimakkuudesta, muista sairauksista, ruokavaliosta, ravintolisistä, lääkityksistä sekä mahdollisten allergiatestien tuloksista. Kontrolliryhmään hyväksyttiin yli vuoden ikäiset koirat, joilla ei ollut iho-oireita tai muita sairauksia. Veren ravintoainepitoisuudet tutkittiin ulkopuolisessa laboratoriossa.

Tutkimuksessa sairailta koirilla oli tilastollisesti merkitsevästi suuremmat fosforin, natriumin, magnesiumin, raudan, gammalinoleenihapon ja homogammalinoleenihapon veripitoisuudet (p -arvo $< 0,05$). Sen sijaan palmitoleenihapon pitoisuus oli atooppisilla pienempi. Myös E-vitamiinin ja dokosapentaenihapon pitoisuudet olivat kohtalaisen merkitsevästi pienemmät atooppikoilla (p -arvo $< 0,1$). Alfa-linoleenihapon pitoisuus oli kohtalaisesti suurempi atooppikoilla kuin terveillä. Koiran ruokavaliolla oli vaikutusta veren E-vitamiinin ja raudan pitoisuuksiin siten, että veren E-vitamiinipitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi pienempi ja raudan pitoisuus tilastollisesti merkitsevästi suurempi pelkkää raakarukaa syöville koirilla kuin prosessoitua ruokaa tai prosessoitua sekä raakarukaa syöville. Myös C-vitamiinipitoisuus oli kohtalaisesti merkitsevästi pienempi raakarukaa syöville.

Tutkimuksen heikkouksia olivat pieni otoskoko, puuttuvat tulokset osalta koirista sekä ravintolisien kontrolloimattomuus. Tästä johtuen tutkimuksen tuloksista voi tehdä johtopäätöksiä vain maltillisesti. Tämä pilottitutkimus antaa kuitenkin suuntaa tuleville tutkimuksille, joita voisivat olla esimerkiksi E-vitamiinin, raudan ja magnesiumin assosioituminen atopiaan koirilla sekä raakarukokinnan vaikutus koirien veren C- ja E-vitamiinipitoisuuksiin.

Avainsanat – Nyckelord – Keywords

atopia, koiran atooppinen dermatiitti, ravinto, ravintoaineet, vitamiinit, mineraalit, rasvahapot

Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited

Viikin kampuskirjasto

Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktor och ledare – Director and Supervisor(s)

Johtaja: Outi Vapaavuori, Ohjaaja: Anna Hielm-Björkman

1	JOHDANTO	2
2	KIRJALLISUUSKATSAUS.....	3
2.1	Koirien atooppinen dermatiitti	3
2.1.1	Määritelmä ja oireet	3
2.1.2	Yleisyys ja alttiit rodut.....	4
2.1.3	Orvaskeden anatomia ja ihon läpäisyeste	4
2.1.4	Oksidatiivinen stressi	8
2.1.5	Atopian patofysiologiaa	9
2.1.6	Atopia ja geenit.....	10
2.1.7	Diagnoosi ja hoito	11
2.2	Ravinto, ravintoaineet ja atopia.....	12
2.2.1	Vitamiinit.....	14
2.2.2	Mineraalit.....	19
2.2.3	Rasvahapot.....	24
3	AINEISTO JA MENETELMÄT.....	27
3.1	Potilaat	27
3.2	Verinäytteet	28
3.3	Statistiset menetelmät.....	29
4	TULOKSET.....	31
4.1	Atoopikkojen ja terveiden vitamiini-, mineraali- ja rasvahappopitoisuudet ...	31
4.2	Ravinnon vaikutus vitamiini-, mineraali- ja rasvahappopitoisuuksiin	33
5	POHDINTA.....	35
6	VIITTEET	41

1 JOHDANTO

Atopia eli atooppinen dermatiitti on monitekijäinen ja etiologialtaan sekä patofysiologialtaan huonosti ymmärretty sairaus, joka vaivaa eri lähteiden mukaan arviolta jopa noin 10 prosenttia koirista (Hillier & Griffin 2001). Atopian hoito on pitkäjänteistä ja usein elinikäistä. Atopia vaikuttaa koiran elämänlaatuun ja pahimmassa tapauksessa jatkuva kutina häiritsee koiran leikkimistä, syömistä sekä nukkumista. Toistuvat eläinlääkärikäynnit, lääkityskulut ja huoli omasta lemmikistä vaikuttavat myös omistajan hyvinvointiin (Noli ym. 2011). Mitä paremmin sairauden syntymekanismeja ja sairauden taustalla vaikuttavia tekijöitä ymmärretään, sitä paremmin sairautta voidaan hoitaa ja ennaltaehkäistä. Tämän lisensiaatin tutkimuksen tarkoituksena on koota yhteen ja saada lisää tietoa eri ravintoaineiden ja atopian välisestä yhteydestä, ja samalla vertailla koiran ruokavalion vaikutusta veren ravintoainepitoisuuksiin. Kirjallisuuskatsauksessa tarkastelen ensin, mitä atopiasta tiedetään yleisesti. Tämän jälkeen luon katsauksen siihen, mitä on tutkittu ennestään ravinnon, vitamiinien, mineraalien ja rasvahappojen merkityksestä atopiaa sairastavalla koiralla ja myös ihmisellä. Ihmispuolta tarkastelen siksi, että koirien ja ihmisten atooppisella dermatiitilla on paljon yhtäläisyyksiä (Marsella ja Girolomoni 2009). Tutkimusosuudessa vertailen veren ravintoainepitoisuuksia atooppisilla ja terveillä koirilla sekä erilaista ravintoa syöville koirilla. Vastaavia tutkimuksia koirilla ei ole tietojeni mukaan tehty aiemmin. Hypoteesinani on, että atooppisten ja terveiden koirien verinäytteistä löytyy eroa eri ravintoainepitoisuuksien osalta, kuin myös erilaista ruokaa syöville koirilta. Tutkittavaksi roduksi on valittu stafforshirenbullterrieri, joka on yksi atopian riskiroduista (Nødtvedt ym. 2006). Terveissä kontrollikoirissa on staffordshirenbullterriereiden lisäksi pitkäkarvaisia collieita ja sileäkarvaisia noutajia. Tutkimus suoritettiin poikittaisena pilottitutkimuksena Helsingissä Yliopistollisessa eläinsairaalassa vuonna 2013 osana staffordshirenbullterriereiden atopia- ja allergiatutkimusta.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Koirien atooppinen dermatiitti

2.1.1 Määritelmä ja oireet

Nykykäsityksen mukaan koirien atooppinen dermatiitti (canine atopic dermatitis eli CAD) määritellään tulehdukselliseksi ja kutisevaksi allergiseksi ihosairaudeksi, jolle on geneettinen alttius, ja jonka tyypilliset kliiniset oireet liittyvät IgE-vasta-aineisiin (Halliwell 2006). Vasta-aineet ovat useimmiten muodostuneet ympäristöallergeeneja, kuten varasto- ja pölypunkkeja, heinäkasvien ja puiden siitepölyä sekä homeitiötä, vastaan (Saridomichelakis ym. 1999, Hill & DeBoer 2001). Oireita voi aiheuttaa joko yksi tai useampi allergeeni (Saridomichelakis ym. 1999). Kaikilta atooppisilta koirilta IgE-vasta-aineita ympäristöallergeeneja kohtaan ei kuitenkaan löydetä. Tällaista tautimuotoa kutsutaan atopiaa muistuttavaksi dermatiitiksi (atopic-like dermatitis, intrinsic AD) (Halliwell 2006). Tällöin on mahdollista, että koira on herkistynyt tietylle ympäristöallergeenille, joka ei ole ollut mukana allergiatestissä, tai että atopia voi ilmentyä myös muuta kuin IgE välitteistä reittiä (Halliwell ja DeBoer 2001).

Tyypillisin oire atopiassa on kutina, joka alkaa yleensä jo nuorella koiralla, tavallisimmin kuuden kuukauden – kolmen vuoden iässä. Kutinaa esiintyy tyypillisesti naamassa, raajoissa, kainaloissa, nivusalueella ja mahassa. Kutina ilmenee muun muassa rapsuttamisena, nuolemisena ja naaman hankaamisena. Kutina voi olla joko paikallista tai yleistynyttä käsittäen koko kehon. Oireilu voi olla kausittaista tai jatkuvaa aiheuttaja-allergeenista riippuen, mutta noin 80 prosentilla kliiniset oireet muuttuvat lopulta ympärivuotisiksi (Griffin & DeBoer 2001, Scott ym. 2001). Kutinan lisäksi ensijaisena oireena voi esiintyä ihon punoitusta. Atopialle tyypillistä ovat myös toissijaiset iho-oireet eli sekundäärileesiot, jotka aiheutuvat, kun jatkuvan kutinan seurauksena koira nuolee ja rapsuttaa itseään. Rapsuttaminen ja nuoleminen vaurioittavat ihoa, aiheuttavat bakteerien ylikasvua ja mikrobitulohtuksia sekä pitävät tulehdusta yllä. Sekundäärileesioita ovat muun muassa näppylät, syljen värjäämät karvat, kiilloton karva, itseaiheutettu karvattomuus eli alopesia, ihon tummuminen eli

hyperpigmentaatio sekä ihon jäkälöityminen ja paksuuntuminen. Atooppisen koiran oireita voivat pahentaa sekundääristen bakteerien aiheuttamat ihotulehdukset eli pyodermat sekä Malassezia-hiivan aiheuttamat ihotulehdukset (Saridomichelakis ym. 1999, Scott ym. 2001). Ulkokorvantulehdukset ja korvien kutina ovat yleisiä atopiassa ja joskus ulkokorvan tulehdus voi olla atopian ainoa oire. Atopian yhteydessä voi esiintyä myös sidekalvontulehdusta eli konjunktiviittia (Saridomichelakis ym. 1999, Griffin & DeBoer 2001). Oireiden voimakkuus voi vaihdella lähes oireettomasta hyvinkin voimakkaisiin oireisiin, jotka vaikuttavat koiran syömiseen, nukkumiseen, leikkimiseen ja mielialaan (Noli ym. 2011).

2.1.2 Yleisyys ja alttiit rodut

Atopiaa arvellaan esiintyvän noin 10 prosentilla koirista (Hillier & Griffin 2001). Ruotsissa tehdyn tutkimuksen mukaan atopian insidenssi vuosina 1995–2002 oli 1,7 tapausta 1000 koiraa kohti vuodessa (Nødtvedt ym. 2006). Atopiaa esiintyy tietyillä koiraroduilla enemmän kuin toisilla, ja riskirodut voivat vaihdella maittain (Sousa & Marsella 2001). Esimerkiksi Ruotsissa riskirodun kärkeä on bullterrieri, walesinterrieri, bokseri, valkoinen länsiylämaaninterrieri sekä staffordshiren bullterrieri (Nødtvedt ym. 2006). Muita riskirodun, joita kirjallisuus mainitsee, ovat mm. labradorinnoutaja, kultainen noutaja, saksanpaimenkoira, ranskanbulldoggi, shar pei ja yorkshirenterrieri (Saridomichelakis ym. 1999, Picco ym. 2008, Zur ym. 2012). Atopian esiintyminen tietyillä roduilla muita useammin viittaa siihen, että atopialla on geneettistä taustaa (Sousa & Marsella 2001). Esimerkiksi Yhdysvalloissa jopa 25 prosenttia valkoisista länsiylämaaninterriereistä saattaa sairastaa atopiaa (DeBoer & Hill 1999).

2.1.3 Orvaskeden anatomia ja ihon läpäisyeste

Ihon läpäisyesteellä ("skin barrier") ja sen toiminnalla on tärkeä rooli atopiassa, sillä normaali läpäisyeste suojaa elimistöä ympäristön allergeeneilta (Olivry & Hill 2001, Madison 2003). On oleellista tietää, millainen terveen koiran ihon läpäisyeste on ja kuinka tämä suojakerros muodostuu, jotta voidaan ymmärtää, miten esimerkiksi

erilaiset geneettiset ja ravitsemukselliset tekijät voivat vaikuttaa läpäisyesteen toimintaan ja siten atopian kehittymiseen.

Ihon uloin kerros, epidermis eli orvaskesi, koostuu neljästä eri erilaistumisvaiheessa olevasta solukerroksesta, jotka sisimmästä uloimpaan kerrokseen lueteltuna ovat stratum basale eli tyvisolukerros, stratum spinosum eli okasolukerros, stratum granulosum eli jyväissolukerros sekä stratum corneum eli sarveiskerros. Lisäksi kirsusta ja polkuanturoista löytyy kirkassolukerros eli stratum lucidum, jota ei ole muualla ihossa. Suurin osa epidermoksen soluista on keratinosyyttejä, joita muodostuu tyvisolukerroksen kuutiomaisista soluista jakautumalla. Nämä jakautuvat solut työntävät vanhempia soluja aina ulommas, kunnes ne lopulta saavuttavat ihon pinnan ja hilseilevät pois. Tämä keratinosyytin matka tyvisolukerroksesta sarveiskerrokseen kestää noin 22 päivää ja tällä matkalla solussa tapahtuu muutoksia, joista yhdessä käytetään nimitystä keratinisaatio. Solu muun muassa menettää tumansa ja normaalin kalvorakenteensa, solu täyttyy järjestäytyneellä keratiinilla, lipidit siirtyvät solunulkoiseen tilaan ja samalla epidermoksen lipidikoostumus muuttuu. Lisäksi solujen ulkopuolelle muodostuu suojaava proteiinikerros (Scott ym. 2001). Nämä muutokset ovat tärkeitä, jotta iho pystyy normaalilla tavalla suojaamaan elimistöä ulkoisilta uhilta (Kalinin ym. 2001).

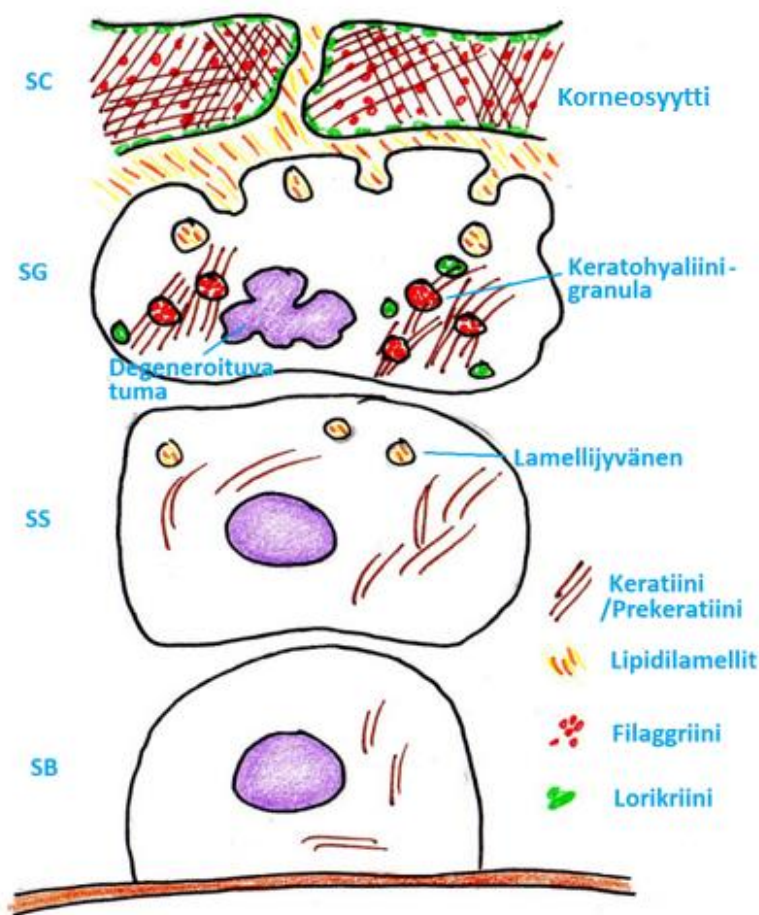
Epidermoksen uloin kerros, stratum corneum eli sarveiskerros, on ihon tärkein suojakerros eläimen ja ympäristön välillä. Sarveiskerros estää haitallisten aineiden pääsyn ihon läpi elimistöön (Kalinin ym. 2001). Lisäksi se estää kosteuden haihtumista epidermoksen läpi (transepidermal water loss TEWL) (Madison 2003). Sarveiskerroksen solut ovat kuolleita, litteitä, tumattomia ja säikeisen keratiini-proteiinin täyttämiä korneosyyttejä. Keratiini on suurimmalta osalta vastuussa eläimen ja ympäristön välisestä suojakerroksesta ja keratiinin esiastetta, prekeratiinia, muodostuu epidermoksen tyvi- ja okasolukerroksessa. Keratiinin lisäksi ihon läpäisyesteen toimintaan osallistuu myös joukko muita proteiineja. Jyväissolukerroksessa tuotetaan keratohyaliinia, jonka sisältämä filaggriini-proteiini liittyy yhteen, pakkaa ja järjestää keratiini-filamentteja. Filaggriini on myös hajotessaan tärkeä aminohappolähde korneosyyteille. Korneosyytteillä ei ole varsinaista solukalvoa, vaan niitä ympäröi

proteiineista, involukriinista, lorikriinista, keratoliinista, pankornuliinista ja kornifiinista, koostunut kerros ("cell envelope"). Tämä proteiinikerros tarjoaa rakenteellista tukea solulle sekä suojaa mikrobeilta (Scott ym. 2001).

Proteiinien ohella myös lipideillä on keskeinen rooli ihon läpäisyesteen toiminnassa (Kalinin ym. 2001). Sarveiskerroksen solut ovat liittyneet toisiinsa tiiviisti keramidipitoisten lipidilamellien välityksellä. Lamelleja muodostuu, kun okasolukerroksessa solun sisällä syntetisoidut lamellijyvät siirtyvät solujen väliseen tilaan jyväissolukerroksessa. Lamellijyvät sisältävät lähinnä keramideja, vapaita rasvahappoja, kolesterolia ja hydrolyyttisiä entsyymejä (Kalinin ym. 2001, Scott ym. 2001). Lipidilamellit ovat tärkeitä ihon kosteustasapainon ylläpidossa (Madison 2003). Epidermoksen lipidikoostumus muuttuu matkalla sisimmästä tyvikerroksesta uloimpaan sarveiskerrokseen. Fosfolipidit korvautuvat keramideilla ja vapaiden rasvahappojen sekä sterolien, kuten kolesterolin, määrä lisääntyy. Näin ulommat epidermoksen kerrokset ovat vakaampia ja läpäisemättömämpiä kuin sisemmät kerrokset (Scott ym. 2001). Läpäisyesteen muodostumista ja siihen keskeisesti osallistuvia molekyylejä on esitetty Kuvassa 1.

Normaaliin keratinisaatioon osallistuvat useat eri välittäjäaineet, mutta lisäksi myös ravintoaineet, kuten rasvahapot, proteiinit, kupari, sinkki, A- ja D-vitamiini sekä B-ryhmän vitamiinit, ovat mukana säätelemässä epidermoksen solujen proliferaatiota, erilaistumista ja keratinisaatiota (Scott ym. 2001).

Atopiaa sairastavilla koirilla ihon läpäisyesteessä on havaittu puutteita (Marsella ym. 2011, Olivry 2011). Atooppisilla koirilla epidermoksen lipidilamellit ovat ohuita ja epäyhtenäisiä ja epidermoksen keramidipitoisuus on pienempi kuin terveillä koirilla sekä leesio- että oireettomilla alueella (Inman ym. 2001, Piekutowska ym. 2008, Shimada ym. 2009, Popa ym. 2011a). Myös proteiineihin sitoutuneen kolesterolin ja vapaiden rasvahappojen määrä näyttäisi olevan pienempi atooppisilla kuin terveillä, kun taas epidermoksen läpi tapahtuva veden menetys (TEWL) on suurempaa



Kuva 1 Orvaskeden eli epidermisen anatomia ja läpäisyeste.

SC=stratum corneum eli sarveiskerros,
SG=stratum granulosum eli jyväissolukerros,
SS=stratum spinosum eli okasolukerros,
SB=stratum basale eli tyvisolukerros

Muokattu lähteestä
<<http://www.studyblue.com/notes/note/n/ap-ch-5/deck/3699828>>
<<http://www.studyblue.com/notes/note/n/ap-ch-5/deck/3699828>>
Haettu 6.10.2013

atoopikoilla (Shimada ym. 2009 Popa ym. 2011a). Atoopikoilla filaggriniin ekspressio eli geenitoiminta on poikkeavaa, ja ainakin osalla koirista atopian taustalla voi vaikuttaa mutaatio filaggriniin koodaavassa geenissä (Chervet ym. 2010). Filaggriniin ekspression vaikuttava geenimutaatio saattaa esiintyä kuitenkin vain osalla koirarotuja (Wood ym. 2010). Santoro ym. (2013) havaitsivat laboratoriokoirilla kohonneen filaggriniin lähetti-RNA ekspression ympäristöantigeenialtistuksen jälkeen, mutta filaggrini-proteiinin määrä iholla ei kuitenkaan suurentunut. On siten mahdollista, että filaggriniin tuotetaan enemmän, mutta sen hajoaminen on kiihtynyt atopiasta kärsivillä koirilla. Marsella ym. (2009) tutkimuksessa atooppisten beaglejen ihon filaggrini-proteiinin määrä oli pienempi kuin terveillä. Ihmisillä on havaittu filaggriniin ekspression olevan selvästi vähentynyt atoopikoilla akuuteilla leesioalueilla (Howell ym. 2009). Vähentynyt ekspressio saattaa olla seurausta atopian akuutille taudinkuvalle tyypillisten Th2-sytokiinien, IL-4:n ja IL-13:n, yliekspressiosta (Howell ym. 2009). Lorikriinin ekspressio

on paikallisesti vähentynyt atooppisilla koirilla, ja myös ihmisillä on havaittu vähentynyt lorikriinin ja involukriinin ekspressio atooppisella iholla (Kim ym. 2008, Chervet ym. 2010). Lorikriinin ja involukriinin ekspression vähenemiseen vaikuttavat myös mahdollisesti IL-4 ja IL-13 (Kim ym. 2008). Keratinosyyttien proliferaatioon ja erilaistumiseen vaikuttavien geenien ekspressiossa on löydetty eroavaisuuksia atopiasta sairastavilla ja terveillä koirilla (Theerawatanasirikul ym. 2012). Varmuutta siitä, ovatko nämä muutokset primaarisia vai sekundaarisia ei ole. Loogista olisi ajatella puutosten ihon läpäisyesteen toiminnassa olevan primaarista, mikä altistaa atoopikot lisääntyneelle allergeenikuormalle.

2.1.4 Oksidatiivinen stressi

Oksidatiivinen stressi on tila, jossa solussa muodostuu hapen radikaalimuotoja enemmän kuin solun suojausmekanismit pystyvät käsittelemään. Reaktiivisia hapen radikaalimuotoja muodostuu jatkuvasti aineenvaihdunnan seurauksena molekulaarista happea kuluttavissa reaktioissa kuten valkosolujen toimiessa tulehtuneessa ihossa (Tizard 2009). Happiradikaalit voivat vaurioittaa mm. solun proteiini- ja lipidirakenteita sekä DNA:ta ja ovat siksi haitallisia. Antioksidantit suojaavat soluja näiltä vaurioilta. Antioksidantteja ovat entsyymit kuten superoksididismutaasi, katalaasi, glutationiperoksidaasi sekä glutationireduktaasi. Nämä entsyymit tarvitsevat toimiakseen usein jonkin hivenaineen, esimerkiksi raudan, kuparin, sinkin tai seleenin. Antioksidantteina toimivat myös elimistön itse tuottamat pienimolekyyliset yhdisteet, kuten glutationi, sekä ravinnon mukana saatavat E- ja C-vitamiinit (Freese & Voutilainen 2012).

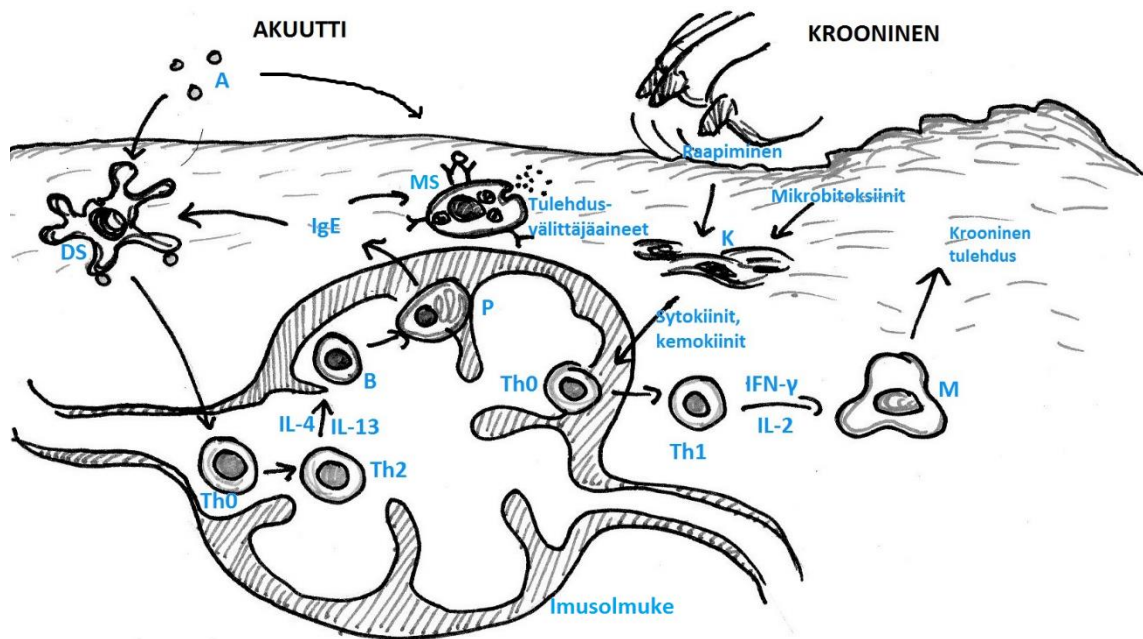
On mahdollista, että atooppisessa dermatiitissa iholla muodostuu tulehduksen takia tavallista enemmän happiradikaaleja, jotka edelleen vaurioittavat ihoa ja heikentävät ihon läpäisyesteen toimintaa. Plevnik Kapun ym. (2012) tutkimuksessa atooppisten koirien plasman malondialdehydi (MDA), joka on oksidatiivisen stressin markkeri, oli merkitsevästi korkeampi kuin terveiden koirien. Lisäksi MDA korreloi atooppisten koirien oireiden vakavuuden kanssa, eli mitä vakavampi taudinkuva oli, sitä suurempi oli

myös oksidatiivisen stressin aiheuttama vaurio solukalvoilla (Plevnik Kapun ym. 2012). Näin ollen oksidatiivisella stressillä näyttäisi olevan rooli myös koirien atooppisessa dermatiitissa.

2.1.5 Atopian patofysiologiaa

Atopia on monitahoinen sairaus, jossa sekä geneettiset- että ympäristötekijät vaikuttavat taudin syntyyn ja oireisiin. Keskeisessä roolissa näyttäisivät olevan ympäristön allergeenikuorma, ihon läpäisyesteen toiminta, Langerhansin solut, Th1- ja Th2-solut, mast-solut sekä IgE-vasta-aineet (van Der Heijden ym. 1991, Day 1996, DeMora ym. 1996, Thepen ym. 1996). Nykykäsityksen mukaan ympäristön antigeeneja pääsee tunkeutumaan atooppisen koiran ihon vajavaisesti toimivan läpäisyesteen läpi epidermikseen, jossa ihon dendriittisolut, Langerhansin solut, sieppaavat antigeenin ja prosessoivat sen (Olivry ja Hill 2001). Antigeenit tunnistetaan toll-like-reseptoreiden avulla (Tizard 2009). Langerhansin solut kulkeutuvat paikalliseen imusolmukkeeseen ja siellä esittelevät allergeenin MHC II -molekyyleissä naiveille auttaja -T-lymfosyyteille (helper T, Th), jotka dendriittisolujen signaloimana muuntuvat tyypin 2 auttaja -T-lymfosyyteiksi (Th2) (Marsella ym. 2012). Th2-lymfosyyttien erittämät sytokiinit (mm. IL-4, IL-13) saavat aikaan B-solujen muuttumisen IgE:tä tuottaviksi plasmasoluiksi. Th2-vaste on tärkeä välittömissä yliherkkyysoireissa ja atooppisten koirien immuunipuolustuksella ajatellaan olevan taipumusta Th2-vasteen dominanssiin (Olivry ym. 1999). IgE-vasta-aineita sitoutuu ihon dermoksen dendriitti- ja mast-soluihin. Kun elimistö altistuu uudelleen samalle allergeenille, dendriittisolut pystyvät entistä tehokkaammin esittelemään allergeenin auttaja -T-lymfosyyteille ja stimuloimaan Th2-vastetta. Lisäksi allergeeni sitoutuu mast-solujen pintaan yhdistäen kaksi IgE-molekyyliä, jolloin mast-soluista vapautuu tulehdusvälittäjäaineita kuten histamiinia, serotoniinia, substanssi P:tä ja sytokiineja, jotka houkuttelevat paikalle tulehdussoluja (Marsella ym. 2012). Iho alkaa myös kutista, mikä on mahdollisesti IL-31 välittämää (Sonkoly ym. 2006). Sairauden edetessä raapiminen sekä sekundaaritulehduksia aiheuttavien mikrobien tuottamat toksiinit aktivoivat epidermoksen keratinosyyttejä vapauttamaan tulehdusta indusoivia sytokiineja ja kemokiineja, jotka muuttavat akuutin taudinkuvan

Th2-vastetta enemmän krooniselle taudinkuvalle tyypilliseen Th1-suuntaan (Thepen ym. 1996, Marsella ym. 2012). Th1-solut eroavat Th2-soluista tuottamiensa sytokiinien perusteella. Th1-solut vapauttavat IFN- γ :a ja IL-2:ta, jotka puolestaan aktivoivat mm. makrofageja. Th1-vasteen tarkoitus on infektion aiheuttajien puhdistaminen elimistöstä, mutta kroonistuessaan se vaurioittaa myös isännän soluja (Tizard 2009). Sairauden kroonistuessa jatkuva tulehdus heikentää edelleen ihon läpäisyestettä sallien yhä suuremman allergeenimäärän tunkeutumisen ihoon. Tämä puolestaan johtaa yhä suurempaan allergeenialtistukseen ja loputtomaan tulehduskierteeseen (Marsella ym. 2012). Kuvassa 2 on esitetty atopian patofysiologiaa kaaviokuvana.



Kuva 2. Atopian patofysiologiaa. A=allergeeni, DS=dendriittisolu, B= B-solu, P=plasmasolu, MS=mast-solu, K=keratinosyytti, M=makrofagi

Muokattu lähteestä Marsella R, Sousa CA, Gonzales AJ, Fadok VA. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. J Am Vet Med Assoc. 2012;241(2):194-207.

2.1.6 Atopia ja geenit

Kuten aiemmin on jo tullut esiin, atopia on patofysiologialtaan monimutkainen sairaus, johon vaikuttavat sekä geenit että ympäristötekijät. Koska toisilla koiraroduilla atopiaa esiintyy huomattavasti enemmän kuin toisilla, atopialla on hyvin todennäköisesti geneettistä taustaa. Shaw ym. (2004) tutkimuksessa atopian periytyvyysasteen laskettiin labradorinnoutajilla ja kultaisillanoutajilla olevan 0,47. Tässä tutkimuksessa

erityisesti pentueen isän atopialla oli vaikutusta jälkeläisten atopiaan, kun taas ihmisillä äidin atopia vaikuttaisi lisäävän lapsen riskiä sairastua atopiaan (Shaw ym. 2004, Bäck ym. 2009, Yamada 2013). Yksittäistä geeniä tai geenimutaatiota, joka laukaisisi atopian, ei kuitenkaan ole löydetty, ja todennäköisesti atopian taustalla onkin useita eri geenejä (Sousa & Marsella 2001). Koirilta on löydetty monia geenejä, jotka eroavat ekspressioltaan atooppisten ja terveiden koirien välillä. Näiden geenien joukkoon kuuluu ihon suojakerroksen muodostumiseen, tulehdus- ja immuunivasteen säätelyyn sekä solusyklin säätelyyn osallistuvia geenejä (Merryman-Simpson ym. 2008, Wood ym. 2009). Sitä, ovatko erot geeniekspressiossa primäärisiä, eli geeneistä johtuvia, vai sekundäärisiä, esimerkiksi tulehduksesta johtuvia, ei kuitenkaan tiedetä.

2.1.7 Diagnoosi ja hoito

Atopian diagnosointi perustuu anamneesiin, kliinisiin oireisiin ja muiden sairauksien poissulkuun. Atopialla ei ole patognomisia oireita, mutta yleisimpiä anamnestisia tietoja ja oireita on listattu diagnoosia tukeviksi kriteereiksi. Näitä kriteereitä ovat Willemsen ja Prélaudin kriteerit sekä laajemman tutkimusmateriaalin perusteella laaditut Favrotin ym. (2010) kriteerit (Willemese 1986, Prélaud ym. 1998, Favrot ym. 2010). Poissuljettavia sairauksia ovat ulkoloisten aiheuttamat dermatiitit sekä bakteeri- ja sieninfektiot. Ruoka-aineen vaikutus tulisi poissulkea eliminaatiodieetillä, mutta joillain atooppikoilla voi olla myös samanaikainen ruoka-aine allergia (Saridomichelakis ym. 1999, Favrot ym. 2010,). Intradermaaliset ja serologiset allergeestit antavat usein vääriä positiivisia tuloksia, joten niitä ei yksinään pitäisi käyttää atopian diagnosoimiseen (Scott ym. 2001). Myös terveillä koirilla esiintyy IgE -vasta-aineita, joten pelkän IgE:n perusteella ei voida erotella atooppisia ja terveitä koiria toisistaan (Lian ja Halliwell 1998). Niistä on apua kuitenkin, kun halutaan päättää, mitä allergeeneja valitaan siedätyshoitoon (Scott ym. 2001).

Atopiaa ei voida parantaa ja hoito keskittyykin kliinisten oireiden kontrollointiin (Scott ym. 2001). Kutinaa voidaan helpottaa paikallisesti kortisonisuihkeilla tai takrolimuusi-voiteella. Systemisesti kutinaan auttaa suun kautta annettava kortisoni tai siklosporiini.

Tietyt tyypin 1 antihistamiinit saattavat vähentää oraalisesti annosteltavan kortisonin tarvetta. Ihon allergeenimäärää voidaan vähentää säännöllisillä sampoopesuilla. Allergeeneja voidaan mahdollisuuksien mukaan myös pyrkiä välttämään tai niiden määrää ympäristössä voidaan yrittää vähentää (Olivry ym. 2010). Ravinnon välttämättömillä rasvahapoilla voidaan parantaa turkin ja ihon kuntoa sekä vähentää kortisonin tarvetta (Sævik ym. 2004, Olivry ym. 2010). Myös topikaalisesti annosteltavista rasvahappoliuoksista saattaa olla apua atopian hoidossa (Piekutowska ym. 2008, Marsella ym. 2013). Allergeenispesifisellä immunoterapialla eli ns. siedätyshoidolla voidaan helpottaa koiran oireita pitkäaikaisesti. Siedätyshoitoa tulisi käyttää erityisesti silloin, kun allergeenia ei pystytä välttämään, eli lääkitystä tarvitaan jatkuvasti, tai kun lääkityksestä huolimatta oireita on vaikea saada pysymään kurissa. Intradermaalisen tai serologisen allergeitestin avulla voidaan valita sopivat allergeenit immunoterapiaa varten. Koska bakteeri- tai sieni-infektiot voivat pahentaa atooppisen koiran oireita, tulisi nämä sekundääriset infektiot hoitaa ensisijaisesti paikallisesti antimikrobisilla ja antifungaalisilla sampoilla, voiteilla tai pyyhkeillä. Vakavissa tai laaja-alaisissa infektioissa myös systeeminen lääkitys voi olla tarpeen. Atooppiset koirat voivat kehittää yliherkkyyden kirpun syljelle, joten kirppuhäädöstä tulee huolehtia alueilla, joilla kirppuja esiintyy. Koiran gamma- ja kissan omega-interferoni rekombinantti-injektiot saattavat myös auttaa oireiden hoidossa koirilla (Olivry ym. 2010).

2.2 Ravinto, ravintoaineet ja atopia

Ihmisillä atooppiset sairaudet ovat yleistyneet viimeisten vuosikymmenten aikana, ja uskotaan, että geneettiset tekijät yksinään eivät selitä näin nopeaa prevalenssin nousua (Devenny ym. 2004). Todennäköisesti muutokset ihmisten, ja ihmisten mukana myöskin koirien, elintavoissa ja elinympäristössä ovat lisänneet sairauden määrää geneettisesti alttiissa yksilöissä (Ring ym. 2001).

Erityisesti ihmispuolella ravinnon ja ravintoaineiden vaikutusta atooppisiin sairauksiin on tutkittu kohtalaisen paljon (Tricon ym. 2006). Tutkimukset ovat käsitelleet

tietyntyyppisen ravinnon tai yksittäisten ravintoaineiden assosioitumista atopiaan (Hon ym. 2010, Toyran ym. 2012). Lisäksi on tutkittu äidin raskauden ja imetyksen aikaisen ravinnon vaikutusta lasten sairastuvuuteen (Wang ym. 2007, Willers ym. 2007, Dattner 2010, Miyake ym. 2010). Atopian ja ruokavalion yhteydestä tehdyt tutkimukset ovat kuitenkin tuloksiltaan usein ristiriitaisia, ja siten esimerkiksi tiettyjen elintarvikkeiden tai ravintoaineiden merkityksen arvioiminen atopian kehittymiseen tai oireisiin on vaikeaa (Tricon ym. 2006).

Koirilla tutkimukset ovat pääasiassa rajoittuneet tarkastelemaan ravinnon rasvahappojen ja atooppisille koirille suunnattujen kuivaruokien vaikutusta oireiden voimakkuuteen (Scott ym. 1997, Bensignor ym. 2008, Glos ym. 2008). Näistä tutkimuksista on kerrottu lisää tämän liseniaatin tutkielman osuudessa 2.2.3. Rasvahapot. Nødtvedt ym. (2007) tekemässä tutkimuksessa pyrittiin kartoittamaan koirien atooppisen dermatiitin riskitekijöitä ja tässä tutkimuksessa havaittiin emän imetysajan ruokavalion tilastollisesti vaikuttavan jälkeläisten todennäköisyyteen sairastua atopiaan. Terveiden koirien ryhmässä useamman koiran emä oli laktaatiokaudella syönyt kotitekoista ruokaa kuin atooppikkojen ryhmässä. Kaupallisen kuivaruonan tai tölkkiruonan osalta tällaista eroa ei löytynyt. Näyttäisi siis siltä, että emän ei-kaupallisen kotiruonan syöminen imetysaikana vähentäisi pentujen riskiä sairastua atopiaan. On mahdollista, että kotitekoinen ruoka sisältää enemmän mikrobeja kuin teollinen kuivaruoka ja nämä ravinnon mikrobit saattavat auttaa pennun kehittyvää immuunipuolustusta suuntautumaan soluvälitteiseen Th1-suuntaan humoraalisen Th2:n sijaan (Nødtvedt ym. 2007). Tällaisen hygieniahypoteesina tunnetun teorian mukaan immuunijärjestelmä tarvitsee sopivasti mikrobikontakteja tietyllä ajanjaksolla varhaislapsuudessa kehittyäkseen oikein (Strachan 1989). Erityisesti suolistomikrobeilla voi olla tärkeä merkitys immuunipuolustuksen ja myös atopian kehitymisessä sekä ihmisillä että koirilla (Kalliomäki ym. 2001, Marsella 2009). Suoliston bakteerikanta voi muokata kehittyvää immuunipuolustusta tai tietynlaisella mikrobiflooralla voi olla vaikutusta siihen, miten paljon eri vitamiineja (esim. K-vitamiinia) suolistossa muodostuu, millä puolestaan voi olla merkitystä atopian kehittymisen kannalta. Myös kotitekoinen ruoka saattaa sisältää jotain ihon tai immuunipuolustuksen toimintaan oleellisesti vaikuttavaa ravintoainetta enemmän kuin teollinen ruoka, minkä takia

kotitekoinen ruoka näyttäisi suojaavan atopiaalta. Atopiaan sairastuvuuden kannalta voisi siis hyvinkin olla väliä sillä, millaista ruokaa koira syö.

Koirien atooppiseen dermatiittiin osallistuvat monet tekijät, muun muassa geenit ja geenien ilmentyminen, elimistön oma immuunivaste sekä ihon läpäisyesteen toiminta. Kaikkiin näihin osatekijöihin puolestaan vaikuttavat ravinto ja ravinnosta saatavat vitamiinit, kivennäis- ja hivenaineet sekä rasvahapot. Tässä osuudessa kirjallisuuskatsausta tarkastelen, miten eri ravintoaineet saattavat vaikuttaa atopian patofysiologialle keskeisiin mekanismeihin ja siten myös atopian syntyyn ja oireiden voimakkuuteen.

2.2.1 Vitamiinit

A-vitamiini

A-vitamiineja ovat yhdisteet, joilla on retinolin aktiivisuus. Tällaisia ovat paitsi retinoli, myös retinaali, retiinihappo sekä sellaiset karotenoidit, joista voidaan muodostaa retinaalia. A-vitamiinin esiasteena toimivia karotenoideja on noin 50 ja niistä parhaiten A-vitamiiniksi pystytään muuntamaan β -karoteenia. A-vitamiinia saadaan eläinkunnan tuotteista retinolin muodossa sekä värikkäistä kasviksista karotenoideina (Freese & Voutilainen 2012). A-vitamiinia tarvitaan retiinihapon muodossa normaaliin solunjakautumiseen ja erilaistumiseen (Mutanen & Uusitupa 2012). Sitä tarvitaan myös immuunivasteessa ja epiteelikudoksen ylläpidossa ja sillä voi olla vaikutusta haavan paranemiseen (Rojas ym. 1999, Freese & Voutilainen 2012). A-vitamiini lisää T-solujen jakautumista sekä dendriittisolujen kypsymistä ja antigeeniesittelykapasiteettia (Ertesvag ym. 2002, Geissman 2003). Sekä A-vitamiinin puutos että liikasaanti voivat aiheuttaa iho-oireita (Freese & Voutilainen 2012). Karotenoideilla voi lisäksi olla antioksidanttisia ominaisuuksia (Paiva ym. 1999). Näiden kaikkien vaikutustensa takia A-vitamiinilla sekä A-vitamiinin esiasteilla saattaisi hyvinkin olla rooli atopian taudinkuvassa.

McKeever ym. (2004) tutkimuksessa ihmisillä seerumin A-vitamiinin esiasteet α -karoteeni ja β -kryptoksantiini yhdistyivät pienentyneeseen riskiin sairastua atopiaan

aikuisilla, mutta lapsilla seerumin suuri A-vitamiinipitoisuus sen sijaan lisäsi riskiä. β -karoteenilla ei tässä tutkimuksessa ollut yhteyttä atopiaan. Oh ym. (2010) havaitsivat korkean ravinnon β -karoteenin pitoisuuden yhdistyvän vähentyneeseen atopiariskiin lapsilla. Grüber ym. (2012) eivät löytäneet yhteyttä karotenoidien ja atopian välillä. Koirilla atopian ja A-vitamiinin välistä yhteyttä ei tietojeni mukaan ole tutkittu.

B-ryhmän vitamiinint

B-ryhmän vitamiineihin kuuluvat B₁-vitamiini tiamiini, B₂-vitamiini riboflaviini, B₃-vitamiini niasiini, B₅-vitamiini pantoteenihappo, B₆-vitamiini pyridoksiini, B₇-vitamiini biotiini, B₉-vitamiini foolihappo sekä B₁₂-vitamiini kobalamiini. B-ryhmän vitamiineja saadaan lihasta ja eläinperäisistä tuotteista, viljoista, maidosta sekä kasviksista ja marjoista (Freese & Voutilainen 2012).

B-ryhmän vitamiineista B₃-, B₅- sekä B₆-vitamiinit vaikuttavat ihon keramidien muodostukseen. B₃- ja B₅-vitamiinit osallistuvat lisäksi keratinosyyttien rasvahappojensynteesiin (Tanno 2006, Watson ym. 2006). B₆-vitamiini osallistuu myös lipidiaineenvaihduntaan ja sen puutos näkyy muutoksina fosfolipidien linoli- ja arakidonihappopitoisuuksissa. B₆-vitamiinilla on lisäksi vaikutusta soluvälitteiseen immuunipuolustukseen (Freese & Voutilainen 2012). B₉-vitamiinia tarvitaan mm. fosfolipidien synteesiin (Gross ym. 2000).

Oh ym. (2010) havaitsivat ravinnon korkealla B₉-vitamiinin eli foolihapon määrällä olevan yhteys pienentyneeseen atopiariskiin ihmisillä. Matsui & Matsui (2009) tutkimuksessa seerumin foolihappomäärä korreloi käänteisesti veren IgE-tason ja atopian kanssa. On viitteitä siitä, että atooppisilla ihmisillä olisi muuttunut foolihapon metabolia (Husemoen ym. 2006). Watson ym. (2006) tutkimuksessa 16 labradorinnoutajaa saivat 12 viikon ajan ravintoon lisättyä B₃- ja B₅-vitamiineja, histidiiniä, inositolia sekä koliinia. Tutkimuksessa koirien epidermoksen läpi tapahtuva vedenmenetys (TEWL) pieneni yhdeksässä viikossa kontrolliryhmään verrattuna. Saattaa siis olla mahdollista, että B₃- ja B₅-vitamiinilisällä voitaisiin tehostaa ihon läpäisyesteen toimintaa ja sitä kautta helpottaa atopiaa sairastavien koirien oireita. Aihe vaatii kuitenkin vielä lisää tutkimusta.

C-vitamiini

C-vitamiini eli askorbiinihappo toimii antioksidanttina suojaten soluja oksidatiiviselta stressiltä ja lisäksi se toimii useiden entsyymien kofaktorina. C-vitamiinia tarvitaan mm. kollageenin synteesiin ja ilmeisesti se osallistuu välillisesti myös geenien säätelyyn ja E-vitamiinin regenerointiin. C-vitamiinia saadaan hedelmistä, marjoista ja kasviksista (Freese & Voutilainen 2012). Lähinnä antioksidanttisten ominaisuuksiensa takia C-vitamiini on ollut kiinnostuksen kohteena atopiaa käsittelevissä tutkimuksissa, mutta useassa ihmistutkimuksessa ravinnon tai plasman C-vitamiinin määrällä ei ole löydetty yhteyttä atopiaan (Woods ym. 2003, McKeever ym. 2004, Oh ym. 2010). Hoppu ym. (2005) kuitenkin havaitsivat tutkimuksessaan, että äidinmaidon C-vitamiinipitoisuudella saattaa olla suojaava vaikutus lapselle atopian kehittymistä vastaan. Tutkimuksessa äidin ravinnosta saaman C-vitamiinin määrä vaikutti myös maidon C-vitamiinipitoisuuteen. Näin ollen äidin ruokavaliolla voi olla merkitystä lapsen atopian kehittymiselle.

D-vitamiini

Ihmisillä D-vitamiinia syntetisoituu iholla 7-dehydrokolesterolista auringon UVB-säteilyn vaikutuksesta, mutta koirilla tämä syntetisoituminen on heikkoa (How ym. 1994). D-vitamiinia saadaan myös kalasta ja maidosta kolekalsiferolin (D₃-vitamiini) tai kasviksista ergokalsiferolin (D₂-vitamiini) muodossa. Maksassa D-vitamiini hydroksyloidaan 25-OH-D-vitamiiniksi eli kalsidioliksi, joka edelleen munuaisissa muunnetaan biologisesti aktiiviseksi 1,25-(OH)₂-D₃-vitamiiniksi eli kalsitrioliksi (Freese & Voutilainen 2012). Pieniä määriä kalsitriolia muodostuu myös ihon keratinosyyteissä, joissa se vaikuttaa paikallisesti. Iholla D-vitamiini hillitsee epidermisen basaalisolukerroksen solunjakautumista ja osallistuu keratinoyttien erilaistumiseen. Se lisää lorikriinin, involukriinin ja filaggriinin muodostumista sekä säätelee keramidien metaboliaa ollen siten keskeisessä roolissa ihon läpäisyesteen muodostumisessa (Bikle 2012). Lisäksi D-vitamiini osallistuu immuunivasteen säätelyyn: D-vitamiini säätelee sytokiinien tuotantoa, inhiboi Th1-solujen muodostusta ja lisää Th2-solujen määrää (Boonstra ym. 2001). D-vitamiini myös lisää antimikrobisen katelisiidiinin-polyeptidin muodostumista iholla (Hata ym. 2008). D-vitamiini vaikuttaa myös toll-like-reseptori 2:n ja CD14 ilmentymiseen (Bikle 2012). D-vitamiinilla saattaa olla myös antioksidanttisia

ominaisuuksia (Javanbakht ym. 2010). D-vitamiinin moninainen rooli ihon puolustusjärjestelmän toiminnassa tekee siitä mielenkiintoisen molekyylin pohdittaessa sen merkitystä atopian kannalta.

Ihmisillä atopian on havaittu olevan yleisempää pohjoisilla leveysasteilla, jossa altistuminen UVB-säteilylle on kohtalaisen vähäistä ja D-vitamiinin puute yleistä (Brustad ym. 2004). Muun muassa tämä havainto on kirvoittanut tutkimuksia atopian ja D-vitamiinin välisestä yhteydestä. Tähänastiset tutkimukset ovat olleet tuloksiltaan kuitenkin ristiriitaisia. Ihmisillä voidaan atopian oireita lieventää valohoidon avulla, minkä positiivisen vaikutuksen ajatellaan aiheutuvan lisääntyneestä D-vitamiinin synteesistä iholla ja seerumin D-vitamiinitason noususta (Vähävihi ym. 2008). Myös suun kautta annosteltavan D-vitamiinilisän on raportoitu helpottavan oireita atoopikoilla. Sidbury ym. (2008) tutkimuksessa kuukauden mittaisella päivittäisellä 1000 IU:n D-vitamiinilisällä saatiin helpotettua talvella pahentuvan atopian oireita ihmisillä, joskin tässä pilottitutkimuksessa otoskoko (11) oli varsin alhainen. Myös Javanbakht ym. (2011) ihmistutkimuksessa 60 päivän 1600 IU:n D-vitamiinilisä lievitti sairauden oireita atoopikoilla, erityisesti yhdistettynä E-vitamiinilisään. Seerumin D-vitamiinipitoisuuden on myös havaittu käänteisesti korreloivan atopian vakavuuden ja esiintyvyyden kanssa (Peroni ym. 2001, Oren ym. 2008). Miyake ym. (2010) tutkimuksessa äidin raskaudenaikainen D-vitamiininsaanti näytti vähentävän lapsen riskiä sairastua atopiaan. Päinvastaisia tuloksia sen sijaan ovat löytäneet Gale ym. (2008), joiden tutkimuksessa äidin raskauden loppuvaiheen seerumin D-vitamiinipitoisuuden huomattiin lisäävän lapsen riskiä sairastua atopiaan. Lisäksi Bäck ym. (2009) sekä Hyppönen ym. (2004) ovat havainneet säännöllisen D-vitamiinilisän ensimmäisen ikävuoden aikana lisäävän lapsen riskiä sairastua atopiaan.

Tällä hetkellä ihmistutkimusten valossa D-vitamiini näyttäisi siis lievittävän atopian oireita, mikä todennäköisesti on seurausta kyseisen vitamiinin vaikutuksista ihon läpäisyesteen ja mikrobipuolustuksen toimintaan. Toisaalta taas sikiökauden ja varhaislapsuuden D-vitamiininsaanti vaikuttaisi altistavan atopian kehittymiselle, mikä puolestaan voisi selittyä D-vitamiinin vaikutuksella adaptiivisen immunitetin Th1/Th2 -tasapainoon. Koirilla atopian ja D-vitamiinin välistä yhteyttä ovat tutkineet Kovalik ym.

(2012), joiden tutkimuksessa atooppisten koirien seerumin D-vitamiinipitoisuutta tarkasteltiin suhteessa oireiden vakavuuteen ja siihen, miten hyvin koirat vastasivat suun kautta annosteltavaan kortisoniterapiaan. Tutkimuksessa terveiden ja sairaiden koirien seerumin D-vitamiinipitoisuuksissa ei ollut eroa, eikä seerumin D-vitamiinipitoisuus myöskään näyttänyt korreloivan taudinkuvan vakavuuden kanssa. Sen sijaan niillä atoopikoilla, jotka parhaiten vastasivat kortisonihoitoon, seerumin D-vitamiinin lähtötaso oli merkitsevästi korkeampi kuin hoitoon huonosti vastanneilla.

E-vitamiini

E-vitamiini on rasvaliukoinen vitamiini, jonka biologisesti tärkein muoto on α -tokoferoli (Roudebush ym. 2000). E-vitamiinia saadaan kasviöljyistä ja siemenistä, ja ravinnon sisältämä rasva edistää vitamiinin imeytymistä (Freese & Voutilainen 2012). E-vitamiini toimii antioksidanttina lipidifaaseissa, eli se suojaa solukalvoja happiradikaalien vaikutukselta. Lisäksi E-vitamiini estää T-lymfosyyttien IL-4:n tuotantoa estämällä transkriptiotekijöiden sitoutumisen IL-4:ää koodaavalle geenialueelle (Li Weber ym. 2002). Kuten aiemmin on tullut esille, sekä oksidatiivisella stressillä että IL-4:llä, joka on keskeinen Th2-vasteen sytokiini, on roolinsa atopian patofysiologiassa. Näin ollen E-vitamiinilla saattaisi hyvinkin olla rooli atooppisessa dermatiitissa.

Tuoreessa koirilla tehdyssä tutkimuksessa Plevnik Kapun ym. (2013) totesivat plasman E-vitamiinipitoisuuden olevan huomattavasti alhaisempi atooppisilla kuin terveillä koirilla. Tämä voi selittyä lisääntyneenä antioksidanttien kulutuksena oksidatiivisen stressin takia. Ihon E-vitamiinipitoisuudessa ei sen sijaan ollut tilastollisesti merkitsevää eroa terveiden ja sairaiden välillä eikä E-vitamiinipitoisuus plasmassa tai ihossa korreloinut taudinkuvan vakavuuden kanssa. Ihmispuolen tutkimuksissa ravinnon E-vitamiinin on havaittu vähentävän seerumin IgE-pitoisuutta ja helpottavan atopian oireita aikuisilla (Fogarty ym. 2000, Tsourelis-Nikita ym. 2002, Javanbakht ym. 2011). Lisäksi ravinnon E-vitamiini näyttäisi myös vähentävän aikuisten riskiä sairastua atopiaan (Fogarty ym. 2000, Oh ym. 2010). Atopiaa sairastavan äidin E-vitamiininsaannilla on huomattu olevan suojaava vaikutus lapsen sairastuvuuteen (Martindale ym. 2005). Woods ym. (2003) eivät havainneet ravinnon E-vitamiinilla minkäänlaista yhteyttä atopian esiintyvyyteen, kun taas McKeever ym. (2004)

tutkimuksessa seerumin korkealla E-vitamiinipitoisuudella näytti olevan suojaava vaikutus aikuisilla, mutta ei lapsilla. Edellämainittujen tutkimusten valossa on mahdollista, että E-vitamiinilla on jonkinlainen suojaava rooli atopian synnyssä, mutta lisätutkimusta aiheesta tarvitaan.

2.2.2 Mineraalit

Mineraalit ovat ruuan epäorgaanisia elementtejä, joita elimistö tarvitsee elinten ja kudosten rakennusaineiksi, homeostaasin ylläpitoon sekä entsyymien toimintaan. Mineraalit jaetaan kahteen luokkaan sen mukaan, kuinka suuria määriä elimistö niitä ravinnosta tarvitsee. Nämä luokat ovat kivennäisaineet ja hivenaineet. Kivennäisaineita ovat kalsium, fosfori, natrium, magnesium, kalium, kloridi sekä rikki. Hivenaineita taas ovat rauta, sinkki, kupari, jodi, seleeni, mangaani, koboltti, molybdeeni, fluori, boori ja kromi (Gross ym. 2000).

Kalsium ja fosfori

Kalsiumista (Ca) suurin osa sijaitsee luustossa hydroksiapatiittina. Vapaalla ionisoituneella kalsiumilla on tärkeä rooli toisiolähetinä soluissa, joissa se osallistuu lukuisiin toimintoihin, esimerkiksi solujen jakaantumiseen, solujen väliseen signalointiin sekä DNA-synteesiin (Gross ym. 2000). Kalsiumilla on tärkeä rooli mm. korneosyyttien erilaistumisessa ja kypsymisessä (Bikle 2012). Elimistön kalsiumtasapaino on hormonaalisesti säädeltyä ja D-vitamiini vaikuttaa kalsiumin imeytymiseen. Kalsiumia saadaan mm. maitotuotteista ja kalasta (Freese & Voutilainen 2012).

Fosfori (P) esiintyy elimistössä fosfaattina. Kalsiumin tapaan myös fosforista suurin osa sijaitsee luukudoksessa, mutta lisäksi fosforia esiintyy myös solun sisäisissä rakenteissa, solunulkoisissa nestetiloissa sekä solukalvoilla. Fosfaatti osallistuu elimistön happo-emästasapainon säätelyyn ja energia-aineenvaihduntaan sekä aktivoi useita entsyymejä. Fosforia saadaan esimerkiksi lihasta, kalasta, kananmunasta, maidosta ja viljatuotteista (Freese & Voutilainen 2012).

Kalsiumin ja fosforin yhteyttä atopiaan on tutkittu vain vähän. Miyake ym. (2010) tutkivat raskauden aikaisen kalsiuminsaannin ja atopian välistä yhteyttä ihmisillä, mutta tutkimuksessa kalsiumilla ei näyttänyt olevan yhteyttä lapsen alttiuteen sairastua atopiaan. Yamada ym. (2013) taas tutkivat 834 äiti-lapsi -parin hiusten mineraalinäytteet 32 mineraalin osalta ja tarkastelivat niiden assosioitumista atopiaan. Tässäkään tutkimuksessa kalsiumilla tai fosforilla ei havaittu olevan yhteyttä atopiaan.

Natrium, kalium ja kloridi

Natrium (Na), kalium (K) ja kloridi (Cl) ovat elimistön tärkeimmät elektrolyytit ja ne säätelevät nesteiden osmolaalisuutta. Natrium on keskeinen kationi solun ulkoisissa nestetiloissa ja se osallistuu monien aineiden kuljetukseen solukalvon läpi. Kloridi taas on solunulkoisissa nesteissä anionina ja se osallistuu mm. elimistön happo-emästasapainon säätelyyn. Kalium on tärkeä solun sisällä vaikuttava kationi ja se osallistuu solun tilavuuden sekä happo-emästasapainon säätelyyn. Pieni osa kaliumista sijaitsee solun ulkopuolella, jossa se säätelee hermo- ja lihassolujen toimintaa (Feese & Voutilainen 2012). Ravinnon natriumilla tai kaliumilla ei ole todettu yhteyttä atopian välillä ihmisillä (Britton ym. 1994, Woods ym. 2003, McKeever ym. 2004). Myöskään Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa natriumilla, kaliumilla tai kloridilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Magnesium

Magnesiumia (Mg) on elimistössä luustossa sekä lihaksissa ja magnesium on kalsiumin jälkeen toiseksi yleisin solunsisäinen kationi. Magnesiumilla on lukuisia tehtäviä elimistössä ja se osallistuu hiilihydraattien, lipidien ja proteiinien metaboliaan sekä sitruunahappokierron ja oksidatiivisen fosforylaation reaktioihin. Magnesiumia tarvitaan myös DNA:n kahdentumiseen, proteiinisynteesiin, solunsisäisten toisolähekkien muodostukseen ja ionikanavien toimintaan. Magnesiumia saadaan vihreistä kasviksista ja täysjyväviljasta (Feese & Voutilainen 2012).

Magnesiumin yhteyttä atopiaan on tutkittu vain vähän. Toyran ym. (2012) tutkimuksessa ihmisillä seerumin magnesiumipitoisuus oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kontrolliryhmällä kuin sairaila. Lisäksi viidesosalla atopiaa sairastavista lapsista seerumin magnesiumipitoisuus oli viitearvojen alapuolella. Vastaavasti

kontrolliryhmässä näin ei ollut yhdelläkään potilaalla. Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa magnesiumilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Kupari

Kupari (Cu) toimii metalloentsyymien kofaktorina ja elimistö tarvitsee sitä muun muassa järjestäytyneen sidekudoksen ja melaniini-pigmentin tuottamiseen sekä superoksididismutaasin toimintaan (Gross ym. 2000). Kuparilla on myös rooli antioksidanttipuolustuksessa ja raudan aineenvaihdunnassa (Freese & Voutilainen 2012). Kuparin puute ilmenee karvan normaalin värin menetyksenä, vähentyneenä karvan tiheytenä sekä kiillottomana ja karheana karvana (Roudebush ym. 2000). Kuparia saadaan mm. sisäelimistä (Freese & Voutilainen 2012).

Hong Kongissa tehdyssä tutkimuksessa verrattiin atopiaa sairastavien lasten seerumin hivenainepitoisuuksia muista ihosairauksista kärsivien lasten seerumin hivenainepitoisuuksiin. Atopiaa sairastavilla Cu/Zn -suhde oli korkeampi kuin ei-atoppisilla lapsilla. Cu/Zn -suhde myös korreloi sairauden vakavuuden ja elämänlaadun kanssa. Tutkimuksessa 40 prosentilla atopiaa sairastavista seerumin kuparipitoisuus oli alhainen, mutta keskimäärin kuparipitoisuus oli kuitenkin korkeampi, kuin muita ihosairauksia sairastavilla (Hon ym. 2010). Toyran ym. (2012) tutkimuksessa merkitsevää eroa seerumin kuparipitoisuuksissa atopiaa sairastavien ja terveiden välillä ei havaittu. Myöskään Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa kuparilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Seleeni

Seleeniä (Se) tarvitaan glutationiperoksidaasin toimintaan ja elimistön antioksidanttipuolustukseen. Seleeniä saadaan muun muassa viljasta ja lihasta (Freese & Voutilainen 2012). McKeever ym. (2004) eivät tutkimuksessaan löytäneet yhteyttä atopian ja seerumin seleenipitoisuuden välillä. Yamada ym. (2013) hiusnäyte tutkimuksessa lasten alhaisella hiusten seleenipitoisuudella ja atopialla näytti olevan yhteys. Planková ym. (2010) tutkimuksessa atopiaa sairastavien henkilöiden seleenipitoisuus plasmassa oli alhaisempi kuin terveiden. Suun kautta annosteltavalla

seleenillä atooppikkojen plasman seleenipitoisuus saatiin nousemaan ja kliiniset oireet menivät prempaan suuntaan 65 prosentilla sairaista. Seleenillä saattaisi siis olla merkitystä atopian oireiden voimakkuuteen. Koirilla seleenin ja atopian välistä yhteyttä ei ole tietojeni mukaan tutkittu.

Sinkki

Sinkkiä (Zn) tarvitaan elimistössä aktivoimaan lukuisia entsyymejä, jotka osallistuvat muun muassa nukleiinihappometaboliaan, proteiinisynteesiin, immuunivasteen muodostukseen sekä ihon ja haavojen paranemiseen (Gross ym. 2000). Yksi sinkin puutoksen oireista on alopesia ja sinkin puute on liitetty myös hidastuneeseen haavan paranemiseen (Rojas ym. 1999). Sinkin puutteeseen ihmisillä voi liittyä epätasapaino Th1- ja Th2-solujen toiminnassa (Prasad 2000). Sinkki vaikuttaa myös välttämättömien rasvahappojen metaboliaan, ja on mahdollista, että sinkin puute heikentää välttämättömien rasvahappojen imeytymistä tai toisin päin (Gross ym. 2000). Linoleenihapon ja sinkin lisäämisellä yhdessä ruokavalioon on koirilla havaittu lisäävän turkin kiiltoa ja vähentävän hilseilyä (Marsh ym. 2000). Sinkkiä saadaan lihasta, sisäelimistä ja viljasta (Freese & Voutilainen 2012).

Hon ym. (2010) tutkimuksessa ihmisillä seerumin sinkkipitoisuus oli alhainen monilla ihosairauksista kärsivillä potilailla, atooppikoilla 60 prosentilla. Lisäksi havaittiin heikko korrelaatio seerumin sinkkipitoisuuden ja pitkäaikaisen sairauden vakavuuden kanssa. Myös tutkimuksessa, jossa mitattiin veren punasolujen sinkkipitoisuutta, atooppisilla potilailla sinkkipitoisuudet olivat matalammat ja sinkkivajaus yleisempää kuin terveellä kontrolliryhmällä (Toyran ym. 2012). Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa sinkillä ei havaittu yhteyttä atopiaan. Koirilla sinkin vaikutuksesta atopiaan ei tietojeni mukaan ole tutkittu.

Rauta

Rautaa (Fe) löytyy elimistöstä punasolujen hemoglobiinista, lihasten myoglobiinista sekä entsyymeistä. Rautaa tarvitaan hapen kuljetukseen sekä solun energiantuotantoon ja rauta on osallisena elimistön hapetus-pelkistysreaktioissa. Esimerkiksi kollageeninsynteesissä tarvittavat hydroksylaasi-entsyymit ja

eikosanoidiaineenvaihdunnassa tarvittava lipoksigenaasi-entsyymi tarvitsevat rautaa toimakseen (Freese & Voutilainen 2012). Rautaa tarvitaan myös melaniinin synteesissä (Scott ym. 2001). Rautaa saadaan sisäelimestä ja lihasta (Freese & Voutilainen 2012). Toyran ym. (2012) tutkimuksessa merkitsevää eroa seerumin rautapitoisuuksissa atopiaa sairastavien ja terveiden ihmisten välillä ei havaittu. Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa raudalla ei havaittu olevan yhteyttä atopiaan.

Jodi

Jodia (I) elimistö tarvitsee syntetisoidakseen kilpirauhashormoneita, joita puolestaan tarvitaan yksilön normaaliin kasvuun ja kehitykseen sekä aineenvaihdunnan säätelyyn. Jodia saadaan kaloista, äyriäisistä ja levistä (Freese & Voutilainen 2012). Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa jodilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Mangaani

Mangaani (Mn) toimii kofaktorina entsyymeissä, jotka osallistuvat elimistön aminohappo- ja hiilihydraattiaineenvaihduntaan sekä antioksidanttipuolustukseen (Gross ym. 2000). Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa mangaanilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Molybdeeni

Molybdeenia (Mo) tarvitaan mm. puriinien ja rikin aineenvaihduntaan (Freese & Voutilainen 2012). Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa molybdeenilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Kromi

Kromin (Cr) tehtävistä elimistössä ei ole tarkkaa tietoa, mutta sen arvellaan osallistuvan mm. insuliinin signalointiin (Freese & Voutilainen 2012). Yamada ym. (2013) hiusten mineraalipitoisuustutkimuksessa kromilla ei havaittu yhteyttä atopiaan.

Strontium

Strontium osallistuu luiden mineraalimetaboliaan (Pasqualetti ym. 2013). Yamada ym. (2013) tutkimuksessa lasten hiusten alhaisella strontiumpitoisuudella (Sr) havaittiin yhteys lasten lisääntyneeseen riskiin sairastua atopiaan.

2.2.3 Rasvahapot

Rasvahappojen luokittelu

Rasvahappoja luokitellaan sen mukaan, kuinka monta hiiliatomien välistä kaksoissidosta hiiliketjusta löytyy. Tyydyttyneissä rasvahapoissa kaksoissidoksia ei ole yhtään, kertatyydyttymättömissä on yksi ja monityydyttymättömissä useampia. Tavallisin ravinnosta saatava monityydyttymätön rasvahappo on linolihappo, jossa on 18 hiiltä ja kaksi kaksoissidosta ja jota merkitään (18:2 n-6) (Mutanen & Voutilainen 2012). Linolihapon ensimmäinen kaksoissidos sijaitsee kuudennen ja seitsemännen hiiliatomin välissä metyyli-päästä luettuna, jonka ansiosta linolihappo luetaan omega-6-rasvahapoiksi. Vastaavasti monityydyttymättömiä rasvahappoja, joissa ensimmäinen kaksoissidos sijaitsee kolmannen ja neljännen hiilen välissä, kutsutaan omega-3 rasvahapoiksi (Gross ym. 2000). Esimerkiksi alfa-linoleenihappo (18:3 n-3) on omega-3 rasvahappo (Mutanen & Voutilainen 2012). Välttämättömät rasvahapot ovat rasvahappoja, joita ei pystytä syntetisoimaan elimistössä, vaan niitä on saatava ruoan mukana. Koiralle välttämättömiä rasvahappoja ovat omega-6-rasvahapot linolihappo ja gamma-linoleenihappo (18:3 n-6) sekä omega-3-rasvahappo alfa-linoleenihappo. Mahdollisesti myös eikosapentaeenihappo (20:5 n-3, EPA) ja dokosaheksaeenihappo (22:6 n-3, DHA) ovat koiralle välttämättömiä (Gross ym. 2000). EPA:a voidaan syntetisoida alfa-linoleenihaposta ja EPA:sta edelleen voidaan syntetisoida DHA:ta, mutta koiralla erityisesti DHA:n syntetisointi on huomattavasti tehottomampaa kuin sen saaminen suoraan ravinnosta (Dunbar ym. 2010). Linolihappoa saadaan mm. auringonkukkaöljystä, alfa-linoleenihappoa rypsiöljystä, ja EPA:a ja DHA:a rasvaisesta kalasta (Mutanen & Voutilainen 2012).

Välttämättömät rasvahapot ja iho

Sekä omega-3- että omega-6-rasvahapot osallistuvat ihon terveyden ylläpitoon (Gross ym. 2000). Esimerkiksi linolihappo on osa epidermisen keramidien rakennetta ja siten sillä on tärkeä rooli ihon kosteustasapainon ylläpidossa (Madison 2003). Ravinnosta saatavat omega-3- ja omega-6-rasvahapot näyttäisivät vaikuttavat myös epidermisen sarveiskerroksen rasvahappokoostumukseen. Popa ym. (2011b) tutkimuksessa välttämättömien rasvahappojen (linolihappo, gammalinoleenihappo, EPA, DHA) lisääminen atooppisten koirien ravintoon kahdeksan viikon ajan nosti ihon proteiineihin sitoutuneiden kolesterolin ja rasvahappojen sekä vapaiden keramidien määrän samalle tasolle terveiden koirien kanssa. Myös proteiineihin sitoutuneiden keramidien osuus kasvoi, mutta ei kuitenkaan saavuttanut kontrollikoirien tasoa. Sen sijaan vapaan kolesterolin ja vapaiden rasvahappojen määrä lisääntyi yli kontrollikoirien tason. Myös solujen välisten lipidilamellien määrä kasvoi, mutta jäi silti normaalia alhaisemmaksi. Toisessa tutkimuksessa sen sijaan Mueller ym. (2005) eivät saaneet 10 viikon rasvahappolisillä (joko pellavaöljy tai EPA ja DHA) aikaan muutoksia ihon rasvahappokoostumuksessa, eivätkä ihon tai plasman rasvahappopitoisuudet korreloineet oireiden voimakkuuden kanssa. Näiden kahden tutkimuksen poikkeavia tuloksia saattaa ainakin osittain selittää se, että rasvojen metaboliassa voi olla eroja eri yksilöiden välillä.

Välttämättömät rasvahapot ja tulehdus

Välttämättömät rasvahapot toimivat osana fosfolipidien rakennetta solukalvoilla ja ne ovat tärkeitä eikosanoidien esiasteita. Eikosanoideja ovat prostanoidit, kuten prostaglandiinit ja prostasykliinit, sekä leukotrieenit ja niitä muodostuu solukalvon hajoamistuotteina hormonaalisen, kemiallisen tai mekaanisen ärsytyksen seurauksena (Mutanen & Voutilainen 2012). Arakidonihaposta tuotetut eikosanoidit, prostaglandiini E_2 (PGE_2) ja leukotrieeni B_4 (LTB_4), ovat tärkeitä tulehduksen välittäjäaineita. Sen sijaan omega-3-rasvahapoista, kuten EPA:sta, tuotetut eikosanoidit ovat vähemmän voimakkaita tulehduksen välittäjiä (James ym. 2000). Näin ollen EPA pystyy vähentämään tulehdusta stimuloivien PGE_2 :n ja LTB_4 :n muodostumista kilpailemalla arakidonihapon kanssa eikosanoideja tuottavista entsyymeistä, ja siten omega-3-rasvahapoilla on tulehdusta hillitsevä vaikutus (Sperling ym. 1993, Caughey ym. 1996).

Omega-3-rasvahappojen määrään solukalvoilla voidaan vaikuttaa ravinnon rasvahappokoostumuksella. Omega-3-rasvahappoja sisältävä ravinto kasvattaa solukalvojen omega-3-pitoisuutta samalla, kun omega-6-rasvahappojen, kuten arakidonhapon, määrä solukalvolla vähenee (Stoeckel ym. 2011). Tulehdusvastetta muuntelevien ominaisuuksien lisäksi monityydyttymättömät rasvahapot voivat suoraan muuntaa T-lymfosyyttien toimintaa vaikuttamalla solun signaalireitteihin (Calder ym. 2002).

Välttämättömät rasvahapot ja koirien atooppinen dermatiitti

Välttämättömien rasvahappojen vaikutusta atooppisten koirien oireiden lievittämisessä on tutkittu jonkin verran. Atopiaa sairastaville koirille suunnattuihin kaupallisiin kuivaruokiin on yleensä lisätty tavallista enemmän välttämättömiä rasvahappoja. Osalla koirista tällainen ravinto tutkitusti lieventää oireita (Scott ym. 1997, Bensignor ym. 2008, Glos ym. 2008). Kaikki atooppiset koirat eivät kuitenkaan vastaa rasvahappolisään toivotulla tavalla, ja onkin mahdollista, että ainakin osalla atoopikoista välttämättömien rasvahappojen metabolia saattaa olla poikkeavaa puutteellisesta delta-5- ja/tai delta-6-desaturaasientsyymin toiminnasta johtuen (Scott ym. 1997). Nämä entsyymit osallistuvat linolihapon muuntamiseen arakidonihapoksi ja myös alfa-linoleenihapon muuttamiseen EPA:ksi (Gross ym. 2000). Abba ym. (2005) tutkimuksessa lievästi oireilevat vastasivat paremmin välttämättömien rasvahappojen lisäämiseen ravintoon kuin sellaiset koirat, joilla taudinkuva oli vakavampi ja kroonistunut. Näin ollen myös taudin vakavuus voi vaikuttaa siihen, kuinka hyvin koira vastaa rasvahappolisään, joskaan syytä tähän ei tiedetä. Myös Mueller ym. (2004) tutkimuksessa pellavaöljyisiä tai kaupallista EPA/DHA lisää saavien koirien oireet lievenivät 10 viikon aikana kontrolliryhmään verrattuna, mutta tällä ei kuitenkaan havaittu olevan yhteyttä omega-3- tai omega-6-rasvahappojen määrään ravinnossa eikä ravinnon omega-6/omega-3-rasvahapposuhteeseen. Näin ollen vaikka tutkimuksissa on saatu viitteitä siitä, että ainakin osalle koirista rasvahappolisästä voi olla hyötyä, on mahdollista, että optimaalisin välttämättömien rasvahappojen määrä ja omega-6/omega-3-rasvahapposuhte vaihtelevat koiran sairauden vaiheesta, rodusta ja yksilöstä riippuen.

3 AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1 Potilaat

Tutkimus oli osa laajempaa Helsingin yliopiston eläinsairaalassa vuonna 2013 käynnissä olevaa staffordshirenbullterriereiden atopia- ja allergiatutkimusta. Tutkimukseen haettiin potilaita mainostamalla tutkimusta internetissä ja Staffordshirenbullterrieriyhdistys ry:n jäsenlehdessä ja vierailemalla rotutapahtumissa. Otimme myös yhteyttä staffordshirenbullterriereiden omistajiin, jotka olivat vastanneet Helsingin yliopistossa käynnissä olleeseen koirien ruokintakyselytutkimukseen. Lisäksi terveinä kontrollikoirina käytettiin pitkäkarvaisia collieita ja sileäkarvaisia noutajia, jotka olivat antaneet verinäytteet vuonna 2011 Helsingin yliopistossa tehtyyn tutkimukseen koirien ravintoainepitoisuuksista (Penttinen Laura, Vitamin Status of the Healthy Dog 2013).

Ennen tutkimukseen hyväksymistä staffordshirenbullterriereiden omistajat täyttivät esitietolomakkeen, jossa kysyttiin tietoja koiran iho- ja ruuansulatuskanavaoireista, muista sairauksista, lääkityksistä sekä mahdollisten allergiatestien tuloksista. Lisäksi muiden sairauksien poissulkemiseksi jokaiselle koiralle tehtiin kliininen yleistutkimus, johon kuului sydämen ja keuhkojen auskultointi, lämpötilan mittaaminen sekä iso- ja pieni verenkuva. Käynnin yhteydessä omistajat täyttivät paperilomakkeelle tietoja koiran ruokavaliosta, ravintolisistä, oireista ja kutinan voimakkuudesta. Tarvittaessa otettiin iholta teippi-, raape-, ja karvanäytteitä bakteeri- ja hiivatulehdusten sekä ulkoloisten poissulkemiseksi. Sairaot koirat aloittivat käynnin jälkeen 8 viikkoa kestävästä eliminaatiodieetistä (Royal Canine Hypoallergenic), jotta voitiin poissulkea selvä ruoka-aineallergia. Ensimmäisen viikon aikana vanha ruoka vaihdettiin vähitellen eliminaatiodieettiruokaan, 6 viikkoa koirat söivät pelkkää eliminaatiodieettiä, 8. viikolla koirat altistettiin vähitellen aikaisemmalle ruoalle. Ulkoloisinfektiot suljettiin pois antamalla koirille Stronghold-kuuri. Toisella käynnillä eliminaatiodieetin jälkeen koirat kontrolloitiin uudestaan, jolloin mm. mitattiin oireiden CADESI-04-asteikolla (Olivry ym. 2014). Kontrolliryhmään hyväksyttiin yli vuoden ikäiset koirat, joilla ei ollut iho-

oireita tai muita sairauksia. Kontrolliryhmän pitkäkarvaisten collieiden ja sileäkarvaisten noutajien omistajat olivat eri tutkimuksen (julkaisematon lisensiaatintutkimus Vitamin Status of the Healthy Dog, Penttinen Laura) yhteydessä täyttäneet kyselylomakkeen koiran ruokavaliosta.

Tutkimus on hyväksytty eläinkoelautakunta ELLA:ssa.

3.2 Verinäytteet

Ensimmäisen käynnin yhteydessä koirista kerättiin verinäytteet veren vitamiini-, mineraali- ja rasvahappostatuksen määrittämiseksi. Ennen verinäytteiden ottamista koirat olivat olleet vähintään 12 tunnin mittaisella paastolla. Juominen oli sallittu vapaasti. Suun kautta annettava kortisoni oli lopetettu vähintään neljä viikkoa ennen. Näytteet otettiin etujalasta vena cephalicasta seuraaviin putkiin: 1 kpl Litium-hepariini 9 ml, 1 kpl Litium-hepariini 3 ml, 1 kpl EDTA 9 ml, 1 kpl EDTA 1 ml ja 2 kpl seerumi 7 ml.

9 ml:n ja 3 ml:n litium-hepariiniputket käänneltiin näytteenoton jälkeen muutaman kerran ja laitettiin jäihin ja suojaan luonnonvalolta. 9 ml:n putki sentrifugoitiin 15 minuuttia 3500 rpm, jonka jälkeen eroteltu plasma säilytettiin -80 °C:een pakkasessa näytteen analysointiin asti. Plasmasta määriteltiin C-vitamiinipitoisuus Yliopistollisessa eläinsairaalassa. 9 ml:n putkeen jäänyt verimassa sekä 3 ml:n putki sellaisenaan säilytettiin -20 °C:een pakkasessa näytteiden lähetykseen asti. Näytteet lähetettiin Mila-laboratorioon, jossa niistä määriteltiin kokoveren kivennäis- ja hivenainepitoisuudet sekä punasolujen kuparipitoisuus.

1 ml:n EDTA - putki käänneltiin näytteenoton jälkeen muutaman kerran. Tästä näytteestä määriteltiin pieni verenkuvasta eli puna- ja valkosoluarvot Yliopistollisen eläinsairaalan laboratoriossa.

9 ml:n EDTA - putki käänneltiin näytteenoton jälkeen muutaman kerran ja laitettiin jäihin ja suojaan luonnonvalolta. Näyte sentrifugoitiin 15 minuutin ajan 3500 rpm ja plasma eroteltiin ja vietiin säilytettäväksi -80 °C:een pakkaseen. Loppuputki säilytettiin -20

°C:een pakkasessa näytteen lähetykseen asti. Näytteet lähetettiin Mila laboratorioon, jossa plasmasta määritettiin rasvahappopitoisuudet.

7 ml:n seerumiputket suojattiin molemmat varmuuden vuoksi valolta näytteenoton jälkeen. Putkia seisotettiin 30 minuuttia, jonka jälkeen ne sentrifugoitiin 15 minuutin ajan 3500 rpm. Toisesta putkesta määritettiin koiran peruselinarvot (AFOS, ALAT, albumiini, bilirubiini, fosfaatti, glukoosi, K, Na, Ca, kolesteroli, kreatiniini, proteiinit sekä urea) Yliopistollisen eläinsairaalan laboratoriossa. Toisesta putkesta eroteltiin seerumi -80 °C:een pakkaseen ja loppu putki säilytettiin -20 °C:een pakkasessa. Seerumi lähetettiin analysoitavaksi Mila-laboratorioon, jossa siitä määritettiin A-, E- ja D₃-vitamiini- sekä ubikinonipitoisuus.

3.3 Statistiset menetelmät

Tutkimukseen osallistuneet koirat ryhmiteltiin ruokavalion perusteella statistista tarkastelua varten viiteen eri luokkaan: 1: pelkkää kuivaruokaa syövät, 2: kuivaruokaa ja muuta prosessoitua ruokaa syövät, 3: kuivaruokaa ja raakaruokaa syövät, 4: kuivaruokaa, muuta prosessoitua ruokaa ja raakaruokaa syövät, 5: pelkkää raakaruokaa syövät. Kuivaruokalla tarkoitetaan koirille teollisesti valmistettuja nappuloita, prosessoidulla ruoalla koiranmakkaroita ja säilykkeitä, kypsennettyä lihaa, sisäelimiä, vihanneksia ja kananmunaa, viiliä, piimää, jogurttia, raejuustoa sekä keitettyä riisiä, pastaa, perunaa ja ihmisten ruoantähteitä. Raakaruokalla tarkoitetaan kypsentämätöntä luuta, lihaa, sisäelimiä, kasviksia ja kananmunaa. Koirat jaettiin yllä mainittuihin ryhmiin sen ravinnon mukaan, minkä osuudeksi omistaja ilmoitti olevan vähintään 10 prosenttia koiran ruokavaliosta. Siten esimerkiksi koira, jonka omistaja ilmoitti syövän 90 prosenttia kuivaruokaa ja 10 prosenttia raakaruokaa, luettiin ryhmään 3. Osaan ryhmistä kuului kuitenkin vain muutama koira, joten tilastollista tarkastelua varten ryhmiä yhdistettiin keskenään suuremman ryhmäkoon muodostamiseksi. Ryhmät 1 ja 2 yhdistettiin uudeksi ryhmäksi (Ryhmä 1), samoin ryhmät 3 ja 4 (Ryhmä 2) yhdistettiin.

Ryhmä 5 säilytettiin ennallaan (Ryhmä 3). Koiran katsottiin saavan säännöllistä rasvahappolisää, jos sen ruokaan lisättiin öljyvalmisteita viikoittain tai useammin.

Pitkäkarvaisten collieiden ja sileäkarvaisten noutajien omistajien täyttämistä kyselylomakkeista katsottiin, mikä tai mitkä olivat olleet koiran pääasiallista ravintoa viimeisen vuoden aikana. Pääasialliseksi ravinnoksi katsottiin sellaiset ruoat, joita omistaja ilmoitti koiran syövän muutaman kerran viikossa tai useammin. Näiden tietojen perusteella koirat jaettiin edellä mainittuihin ryhmiin.

Statistiseen tarkasteluun käytettiin IBM SPSS Statistics 21 -ohjelmaa. Aineiston normaalijakautuneisuus tarkistettiin Kolmogorov-Smirnovin- sekä Shapiro-Wilk-testeillä. Normaalisti jakautuneita tuloksia vertailtiin riippumattomien ryhmien t-testillä tai One Way ANOValla. Ei-normaalisti jakautuneiden tulosten vertailuun käytettiin joko Mann-Whitney- tai Kruskal-Wallis-testiä. P-arvo $<0,05$ katsottiin tilastollisesti merkitseväksi, kohtalaisen merkitseväksi pidettiin p-arvoa $<0,10$.

4 TULOKSET

Tutkimukseen osallistui 27 atopiaa sairastavaa ja 10 tervettä staffordshirenbulldogia, lisäksi kontrolliryhmään hyödynnettiin aiemmin otetut näytteet 8 terveestä pitkäkarvaisesta colliesta ja 5 sileäkarvaisesta noutajasta. Yksi koira jouduttiin sulkemaan pois sairaiden koirien ryhmästä yleistutkimuksessa ilmenneen muun sairauden vuoksi. Näin ollen sairaiden ryhmään jäi 26 staffordshirenbulldogia ja terveiden ryhmässä koiria oli yhteensä 23. Tutkimukseen hyväksytyjen koirien ominaisuuksia on esitetty taulukossa 1.

	Atoopikot (n=26)	Kontrolli (n=23)
Uroksia/Narttuja (n)	12/14	2/21
Ikä tutkimushetkellä, ka. (v)	5,1 (±SD 3,3)	4,0 (±SD 2,8)
Staffit/Colliet/Noutajat (n)	26/0/0	10/8/5
Syö pelkkää prosessoitua ruokaa, n(%)	10 (38)	11 (43)
Syö prosessoitua ruokaa ja raakaruokaa, n(%)	6 (23)	11 (52)
Syö pelkkää raakaruokaa, n(%)	10 (38)	1 (4)
Säännöllinen rasvahappolisä n(%)	12 (46)	14 (61)

Taulukko 1. Tutkimukseen osallistuneet koirat kontrolliryhmässä ja sairaiden ryhmässä

4.1 Atoopikkojen ja terveiden vitamiini-, mineraali- ja rasvahappopitoisuudet

Tutkittavilta koirilta määritettiin seerumin A-, C-, D₃- ja E-vitamiinipitoisuudet sekä vitamiinin kaltaisen yhdisteen, ubikinonin, pitoisuus. Neljästä sairaasta staffordshirenbulldogista ei saatu määritettyä A- ja E-vitamiinia. D₃-vitamiinitulos jäi puuttumaan yhdeltä terveeltä sileäkarvaiselta noutajalta ja ubikinonitulos yhdeltä terveeltä staffordshirenbulldogilta. C-vitamiinia ei oltu määritetty sileäkarvaisilta noutajilta eikä collieilta. Sitä ei myöskään saatu määritettyä kahdelta terveeltä staffordshirenbulldogilta. Seerumin E-vitamiinipitoisuus oli kohtalaisen merkitsevästi

pienempi atoopikoilla kuin terveillä. A-, C- ja D₃-vitamiinien osalta eroa ei löydetty. Tulokset on esitetty taulukossa 2.

	Terveet			Sairaats			P-arvo
	N	mean	±SD	N	mean	±SD	
A-vitamiini	23	3,89 µmol/l	1,14	22	3,54 µmol/l	1,35	0,347
D ₃ -vitamiini	22	63,68 nmol/l	22,61	26	64,04 nmol/l	17,58	0,951
E-vitamiini	23	118,48 µmol/l	56,88	22	82,86 µmol/l	67,11	0,061*
C-vitamiini	8	31,29 µmol/l	7,14	26	32,16 µmol/l	6,16	0,738
Ubikinoni	22	1,15 µmol/l	0,56	26	1,02 µmol/l	0,54	0,238

Taulukko 2. Seerumin vitamiinipitoisuudet atooppisilla ja terveillä. Sinisellä* merkitty kohtalainen ero (P<0,1).

Tutkittavilta koirilta määritettiin myös verestä kalsiumin, fosforin, natriumin, kaliumin, magnesiumin, kuparin, seleenin, sinkin ja raudan pitoisuudet. Kalsium ja natrium tulos jäi puuttumaan kuudelta sairaalta ja kymmeneltä eli kaikilta terveiltä staffordshirenbullterriereillä. Fosforin, kaliumin, magnesiumin, kuparin, seleenin, sinkin ja raudan tulokset jäivät puuttumaan yhdeltä terveeltä ja kahdelta sairaalta staffordshirenbullterrieriltä. Sairailla koirilla havaittiin tilastollisesti merkitsevästi suuremmat fosforin, natriumin, magnesiumin ja raudan veripitoisuudet. Tulokset on esitetty taulukossa 3.

	Terveet			Sairaats			P-arvo
	N	mean	±SD	N	mean	±SD	
Ca	13	2,75 mmol/l	0,10	20	2,73 mmol/l	0,09	0,578
P	22	13,51 mmol/l	0,97	24	14,34 mmol/l	0,80	0,003**
Na	13	147,85 mmol/l	1,34	20	151,85 mmol/l	3,10	0,000**
K	22	5,53 mmol/l	0,41	24	5,36 mmol/l	0,65	0,309
Mg	22	1,68 mmol/l	0,13	24	1,85 mmol/l	0,12	0,000**
Cu	22	9,54 µmol/l	0,94	24	9,08 µmol/l	1,07	0,134
Se	22	4,57 µmol/l	0,40	24	4,64 µmol/l	0,52	0,675
Zn	22	59,95 µmol/l	7,33	24	62,21 µmol/l	4,36	0,219
Fe	22	9,85 mmol/l	1,05	24	10,90 mmol/l	0,92	0,001**

Taulukko 3. Veren mineraalipitoisuudet atooppisilla ja terveillä. Punaisella** merkitty merkitsevä ero (P<0,05).

Tutkittavilta koirilta määritettiin lisäksi plasman rasvahappopitoisuudet. Tuloksia ei saatu yhdeltä sairaalta staffordshirenbullterrieriltä eikä kymmeneltä eli yhdeltäkään terveeltä staffordshirenbullterrieriltä. Terveessä kontrolliryhmässä on siten tulokset vain terveiltä sileäkarvaisilta noutajilta ja pitkäkarvaisilta collieilta. Sairailla koirilla oli

tilastollisesti merkitsevästi suuremmat gammalinoleenihapon ja homogammalinoleenihapon veripitoisuudet. Palmitoleenihapon pitoisuus sen sijaan oli atooppisilla pienempi. Kohtalaisen merkitsevänä erona havaittiin dokosapentaenihapon pienempi ja alfa-linoleenihapon suurempi plasmapitoisuus atooppikoilla kuin terveillä. Tulokset on esitetty taulukossa 4.

	Terveet			Sairaat			P-arvo
	N	mean	±SD	N	mean	±SD	
MA	13	0,46	0,18	25	0,40	0,25	0,473
PA	13	16,96	0,80	25	14,68	2,11	0,001**
PO	13	0,91	0,17	25	0,82	0,41	0,470
ST	13	19,96	0,91	25	20,17	1,61	0,661
OA	13	9,20	1,11	25	9,77	2,26	0,398
CVACC	13	1,99	0,31	25	2,11	0,32	0,286
LA	13	18,56	2,17	25	19,73	2,29	0,137
GLA	13	0,12	0,04	25	0,22	0,09	0,001**
ALA	13	0,43	0,27	25	0,68	0,58	0,056*
EDA	13	0,24	0,06	25	0,27	0,13	0,564
HGLA	13	0,80	0,17	25	1,19	0,44	0,000**
AA	13	15,60	2,38	25	16,16	3,84	0,447
EPA	13	2,10	1,38	25	2,89	2,61	0,317
DPA	13	2,83	0,89	25	2,19	0,99	0,051*
DHA	13	2,55	1,16	25	2,70	1,40	0,743

Taulukko 4. Rasvahappopitoisuudet atooppisilla ja terveillä. **Punaisella**** merkitty merkitsevä ero ($P<0,05$). **Sinisellä*** merkitty kohtalainen ero ($P<0,1$). MA = myristiinihappo (14:0), PA = palmitiinihappo (16:0), PO = palmitoleiinihappo (16:1), ST = steariinihappo (18:0), OA = öljyhappo (18:1 n9), CVACC = cis-vakseenihappo (18:1 n7), LA = linolihappo (18:2), GLA = gammalinoleenihappo (18:3 n6), ALA = alfa-linoleenihappo (18:3 n3), EDA = eikosadieenihappo (20:2 n6), HGLA = homogammalinoleenihappo (20:3 n6), AA = arakidonihappo (20:4 n6), EPA = eikosapentaenihappo (20:5 n3), DPA = dokosapentaenihappo (22:5 n3), DHA = dokosaheksaenihappo (22:6 n3).

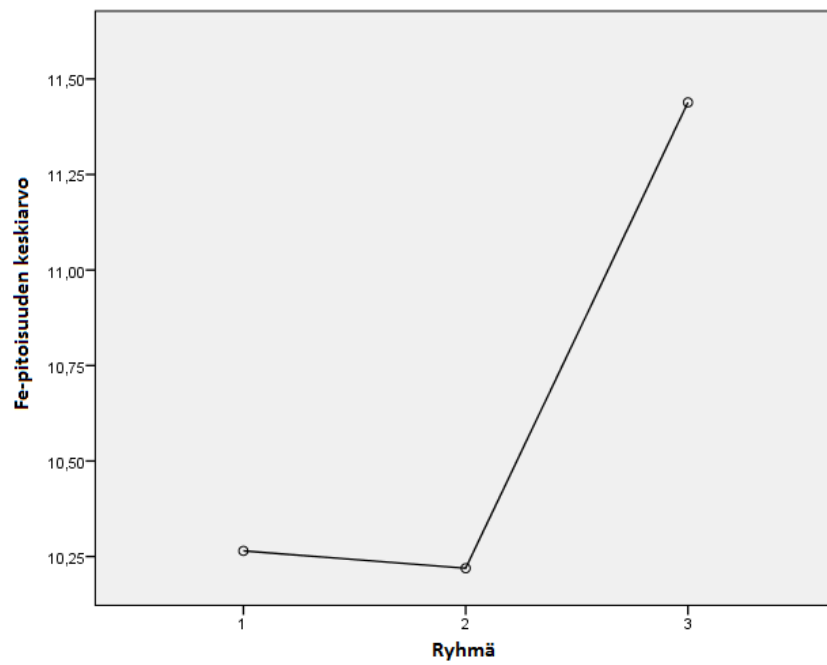
4.2 Ravinnon vaikutus vitamiini-, mineraali- ja rasvahappopitoisuuksiin

Tutkittavien koirien veren ravintoainepitoisuuksia (A-, C-, D₃- ja E-vitamiini, Ca, P, Na, K, Mg, Cu, Se, Zn, Fe sekä rasvahapot MA, PA, PO, ST, OA, CVACC, LA, GLA, ALA, EDA, HGLA, AA, EPA, DPA ja DHA) verrattiin keskenään myös koirien syömän ravinnon mukaan. Ryhmään 1 eli pelkkää prosessoitua ruokaa syöviin kuului yhteensä 21 koiraa, joista 10 oli atooppikkoja ja 11 terveitä. Ryhmä 2 eli sekä prosessoitua että raakaruokaa syövien ryhmä koostui yhteensä 17 koirasta, joista kuusi oli atooppikkoja ja 11 oli terveitä.

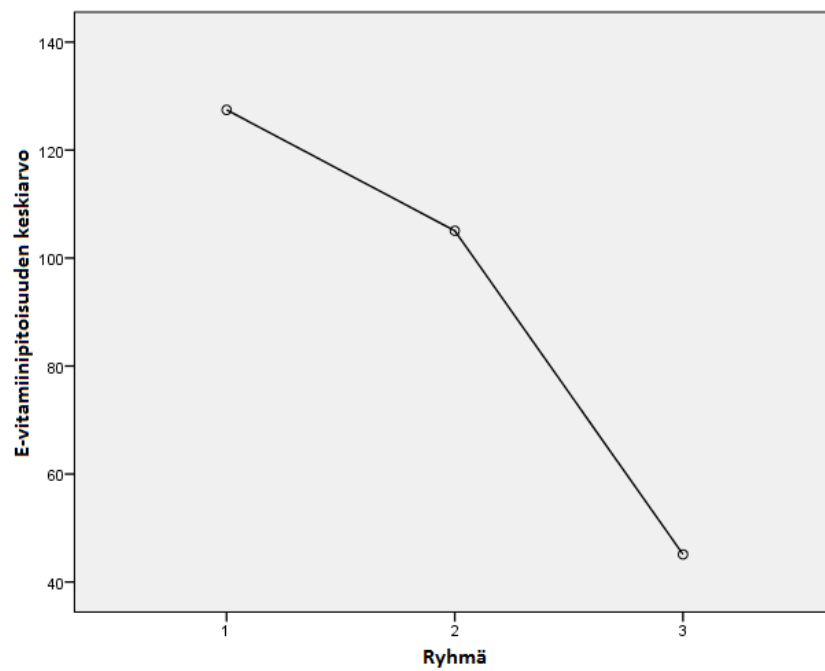
Ryhmään 3 eli pelkkää raakaruokaa syövien ryhmään kuului yhteensä 11 koiraa, joista 10 oli atooppikkoja ja yksi oli terve. Merkitsevä tilastollinen ero löydettiin ryhmien välillä vain raudan ja E-vitamiinin osalta. Ryhmän 3 koirilla veren rautapitoisuus oli suurempi kuin ryhmiin 1 ja 2 kuuluvilla koirilla. E-vitamiinipitoisuus sen sijaan oli ryhmän 3 koirilla huomattavasti alhaisempi. Ryhmien 1 ja 2 välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa raudan eikä E-vitamiinin osalta. Rautapitoisuutta ei saatu määritettyä yhdeltä ryhmään 2 kuuluvalla terveeltä koiralta eikä kahdelta ryhmään 3 kuuluvalla sairaalta. E-vitamiinia ei saatu määritettyä kolmelta sairaalta ryhmän 1 koiralta eikä yhdeltä sairaalta ryhmän 3 koiralta. Eroa ryhmien keskimääräisissä veren rauta- ja E-vitamiinipitoisuuksia on havainnollistettu kuvissa 3 ja 4. Kohtalainen ero ruokintaryhmien 1 ja 3 välillä löydettiin C-vitamiinin osalta. Kohtalainen ero havaittiin myös homogammalinoleenihapon pitoisuuksissa ($P=0,053$). Homogammalinoleenihappoa ei saatu määritettyä kolmelta terveeltä koiralta ryhmästä 1, kuudelta terveeltä koiralta ryhmästä 2, eikä yhdeltä sairaalta koiralta ryhmästä 3. C-vitamiinitulos jäi puuttumaan seitsemältä ryhmän 1 koiralta, seitsemältä ryhmän 2 koiralta ja yhdeltä ryhmän 3 koiralta. Tulokset raudan, E- ja C-vitamiinin sekä HGLA:n osalta on esitetty taulukossa 5.

		N	mean	±SD	1	2	3
Fe	1	21	10,26	0,86	-	0,989	0,015**
	2	16	10,21	1,13	0,989	-	0,016**
	3	8	11,44	0,87	0,015**	0,016**	-
E-vitamiini	1	18	127,44	66,56	-	0,494	0,003**
	2	17	105,06	59,84	0,494	-	0,042**
	3	9	45,11	24,82	0,003**	0,042**	-
C-vitamiini	1	14	34,74	6,43	-	0,366	0,059*
	2	10	31,30	6,84	0,366	-	0,594
	3	9	28,58	4,07	0,059*	0,594	-
HGLA	1	18	0,97	0,48	-		
	2	11	1,03	0,24		-	
	3	9	1,27	0,42			-

Taulukko 5. Erot veren raudan, E-vitamiinin, C-vitamiinin ja homogammalinoleenihapon pitoisuuksissa eri ruokintaryhmien välillä. **Punaisella**** merkitty merkitsevä ero ($P<0,05$). **Sinisellä*** merkitty kohtalainen ero ($P<0,1$). Ryhmä 1= pelkkää kuivaruokaa syövät sekä kuivaruokaa ja muuta prosessoitua ruokaa syövät, Ryhmä 2= kuivaruokaa ja raakaruokaa syövät sekä kuivaruokaa, muuta prosessoitua ruokaa ja raakaruokaa syövät, Ryhmä 3= pelkkää raakaruokaa syövät.



Kuva 4. Veren rautapitoisuudet eri ruokintaryhmissä.



Kuva 5. Veren E-vitamiinipitoisuudet eri ruokintaryhmissä.

5 POHDINTA

5.1 Tutkimuksen virhelähteet

Tutkimuksen suurimpana heikkoutena voidaan pitää pientä otoskokoa. Pienessä otannassa sattuman vaikutus tuloksiin kasvaa. Toisaalta pienellä otoskoolla ei välttämättä saada eroja esille. Edelleen tutkimuksen luotettavuutta heikentää se, ettei kaikista koirista saatu kaikkia näytteitä. Puuttuvat tulokset voivat aiheuttaa harhaa tilastollisiin tuloksiin. Esimerkiksi rasvahappoja ja natrumia ei saatu määritettyä terveiltä staffordshirenbullterriereiltä, joten sairaiden ryhmän ja terveiden ryhmän koirat ovat eritoutuisia. Ei voida varmuudella sanoa, johtuvatko mahdolliset erot rasvahappopitoisuuksissa sairaudesta, vai ovatko erot rotukohtaisia. Rasvahappojen merkityksen arvioimista hankaloittaa lisäksi se, että tutkimuksessa ei oltu mitenkään rajoitettu koirien lisäravinteiden käyttöä: kontrolliryhmässä 16 (70 %) ja sairaiden ryhmässä 12 (46 %) koira saivat ravinnossaan säännöllisiä rasvahappo- tai öljylisiä, jotka saattoivat olla hyvinkin erilaisia. Osa koirista sai kasvisperäisiä öljyjä kuten pellavaöljyä, rypsiöljyä, oliiviöljyä, helokkiöljyä tai hampunsiemenöljyä, toiset taas eläinperäisiä rasvahappolisiä kuten lohiöljyä, kalanmaksaöljyä tai lampaanrasvaa.

Terveiden ja sairaiden ryhmässä eri ruokintaryhmiin kuuluvien koirien määrät eivät olleet tasaiset. Sairaiden koirien ryhmässä suurempi osa koirista oli pelkkää raakaruokaa syöviä kuin terveiden ryhmässä (38 % ja 4 %). On mahdollista, että osa sairaista koirista on siirtynyt raakaruokintaan atopian takia. Tässä tutkimuksessa raakaruokaa syövien ryhmään kuului vain yksi terve koira, minkä takia ei voida havaittujen erojen varmuudella johtuvan ruokavaliosta.

Ryhmiä sukupuolijakaumat eivät olleet tasaiset. Sairaiden ryhmässä oli lähes yhtä paljon uroksia ja narttuja, kun taas kontrolliryhmässä narttuja oli huomattavasti uroksia enemmän. Sukupuolella voi olla merkitystä veriarvojen kannalta ja tämä voi vääristää tuloksia. Myöskään koirien ruokintaryhmät eivät olleet tasakokoisia eivätkä tasalaatuisia. Esimerkiksi ryhmään 1 kuului 21 koira, joista sairaita ja terveitä oli noin

puolet ja puolet, kun taas ryhmään 3 kuului kymmenen koiraa, joista vai yksi oli terve. Näin ollen ei voida varmuudella sanoa, johtuuko havaitut erot ryhmässä 3 muihin ryhmiin verrattuna ruokavaliosta vai sairaudesta.

Tyypillisesti atopia ilmenee koiralla ennen kolmen vuoden ikää. Koska kontrolliryhmään kuitenkin hyväksyttiin kaikki yli vuoden ikäiset, tutkimushetkellä historialtaan iho-oireettomat koirat, on mahdollista, että terveiden joukossa oli tulevia atoopikkoja, joilla sairaus ei vielä tutkimushetkellä ollut ehtinyt puhjeta. Tämä voi sotkea tuloksia.

Potilaiden sairauden vakavuus luokiteltiin vielä julkaisemattomalla CADESI-04-asteikolla (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index). Tutkimuksessa sairailta koirilla CADESI:n tulokset vaihtelivat välillä 5 ja 40. CADESI-03:n mukaan atopian vakavuusasteet luokitellaan pisteiden perusteella neljään ryhmään: remissio 0–15, lievä 16–59, kohtalainen 60–119, vakava ≥ 120 (Olivry ym. 2008). Jos samoja luokitteluasteita sovelletaan myös CADESI-04:lle, tämän tutkimuksen koirat sijoittuvat luokkiin remissio ja lievä. On mahdollista, että ravintoaineiden pitoisuuksissa olisi löydetty enemmän eroja, jos tutkimukseen olisi valittu koiria, joiden sairauden oireet olisivat olleet vakavampia.

Tässä tutkimuksessa pyrittiin myös arvioimaan ruokinnan vaikutusta veren ravintoaineiden pitoisuuksiin. Tieto koirien syömästä ravinnosta perustui omistajien kyselykaavakkeisiin täytettämiin arvioihin, jotka voivat olla hyvinkin suuntaa antavia ja epätarkkoja. Tämä puolestaan voi aiheuttaa epätarkkuutta myös tuloksiin. Lisäksi osa koirista sai lisäravinteina erilaisia rasvahappolisiä, vitamiinilisiä ja nivelten toimintaa tukevia valmisteita, mitkä voivat aiheuttaa harhaa tuloksiin. Paras keino tutkia ravinnon vaikutusta veren ravintoaineiden pitoisuuksiin olisi punnita ja mitata todelliset koirien syömät määrät tiettyä ruokaa ja tutkia ruokien tarkka ravintosisältö. Käytännön syistä tällaista tutkimusta on kuitenkin yksityishenkilöiden omistamilla koirilla vaikea toteuttaa.

5.2 Tulosten merkitys

Tutkimuksessa havaittiin seerumin E-vitamiinipitoisuuden olevan alhaisempi atooppisilla kuin terveillä koirilla. Tässä tutkimuksessa tulos ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevä, mutta lähellä sitä (p-arvo 0,061). Tulos on yhteneväinen Plevnik Kapun ym. (2013) tutkimuksen kanssa, jossa atooppisten koirien plasman E-vitamiinitasot olivat kontrollikoiria selvästi matalammat. Kuten Plevnik Kapun ym. (2013) ovat pohtineet, tämä voi johtua atooppisten koirien lisääntyneestä oksidatiivisesta stressistä ja antioksidanttien kulutuksesta. Aihe vaatii kuitenkin lisätutkimuksia, jotta voitaisiin tehdä johtopäätöksiä E-vitamiinin vaikutuksesta atopian syntyyn tai esimerkiksi E-vitamiinilisän hyödyistä atooppisen koiran oireiden hoidossa.

E-vitamiinin havaittiin myös olevan selvästi alemmalla tasolla pelkkää raakaruokaa syöville koirilla verrattuna kahteen muuhun ryhmään. On mahdollista, että raakaruoka ei sisällä yhtä paljon E-vitamiinin lähteenä toimivia kasviöljyjä kuin teollisesti valmistettu ruoka. Tulos voi myös olla harhautunut, sillä ryhmässä 3 sairaita koiria oli 90 %, ja kuten edellä tuli ilmi, sairailta koirilla E-vitamiinipitoisuuksien todettiin olevan pienemmät kuin terveillä. Aihe vaatisi lisätutkimuksia isommalla ja tasalaatuisemmalla aineistolla.

Plasman C-vitamiinipitoisuuksissa löydettiin kohtalaisesti merkitsevä ero ruokintaryhmien 1 ja 3 välillä. Tämä voisi selittyä sillä, että usein teollisesti valmistettuun ruokaan lisätään C-vitamiinia. Luonnollisesti C-vitamiinia saadaan kasviksista ja hedelmistä. On mahdollista, että raakaruokinnassa kasvien ja hedelmien osuus on sen verran alhainen, että ravinnosta saatavan C-vitamiinin määrä jää alhaisemmaksi kuin teollisesti valmistetuissa ruoissa.

Mineraaleista fosforin, natriumin, magnesiumin ja raudan pitoisuudet sairaiden koirien veressä olivat tilastollisesti merkitsevästi suuremmat kuin kontrolliryhmällä. Fosforilla ja natriumilla ei ole aiemmissa tutkimuksissa raportoitu yhteyttä atopiaan, joskin näitä mineraaleja on tutkittu vain vähän (Yamada ym. 2013, McKeever ym. 2004, Woods ym. 2003). Britton ym. (1994) tutkimuksessa virtsaan eritetyn natriumin määrä oli suurempi atooppisilla ihmisillä kuin ei-atooppisilla. Kyseisessä tutkimuksessa virtsan natriumin

määrä ei kuitenkaan korreloinut atopian vakavuuden kanssa ja tutkijat pitivät tulosta todennäköisenä vääränä positiivisena tuloksena. Koska tässä tutkimuksessa natrium ja fosforinäytteet jäivät saamatta kaikilta terveiltä staffordshirenbulteriereiltä, ei voida varmuudella sanoa, johtuuko havaittu ero todella sairaiden ja terveiden välisistä eroista, vai onko eri rotujen natriumin ja fosforin pitoisuuksissa eroja. Asian varmistaminen vaatisi uuden tutkimuksen suuremmalla potilasmäärällä, jossa sairaiden ryhmä ja kontrolliryhmä vastaavat paremmin toisiaan.

Magnesiumin ja atopian yhteyttä on tutkittu hyvin vähän. Ihmispuolella Toyran ym. (2012) tutkimuksessa atooppikkojen magnesiumpitoisuudet olivat matalammat kuin terveillä, mikä on päinvastoin tämän tutkimuksen tuloksen kanssa. Magnesiumia saadaan muun muassa luista, ja sairaiden koirien ryhmässä raakaruokaa syöviä koiria oli enemmän kuin terveiden ryhmässä. Ruokavalio voi tässä aiheuttaa harhaa tuloksiin, joskaan erikseen ruokavaliota tarkastellessa raakaruokaa syövien koirien magnesiumpitoisuudet eivät tilastollisesti eronneet muiden ruokintaryhmien koirien pitoisuuksista. Magnesiumin mahdollinen rooli atopian kehittymisessä on epäselvä. Aihe vaatii lisätutkimusta suuremmilla potilasmäärillä.

Raudan ja atopian välistä yhteyttä ihmisillä ovat tutkineet Toyran ym. (2012) ja Yamada ym. (2013), mutta näissä tutkimuksissa ei ole havaittu eroa rautapitoisuuksissa sairaiden ja terveiden välillä. Tässä tutkimuksessa havaittiin kuitenkin veren rautapitoisuuden olevan suurempi atooppisilla koirilla kuin terveillä. Tällaista raudan ja atopian välistä assosiaatiota ei tietojeni mukaan ole aiemmin todettu. On otettava kuitenkin huomioon, että sairaiden ryhmässä oli huomattavasti enemmän uroksia kuin terveiden ryhmässä. Ihmisillä raudanpuutos on yleisempää naisilla kuin miehillä eikä ole mahdotonta, että sukupuoli voisi vaikuttaa myös koirilla veren rautapitoisuuteen. Aihe vaatisi lisätutkimuksia suuremmalla potilasmateriaalilla.. Tässä tutkimuksessa havaittiin lisäksi rautapitoisuuden olevan suurempi ruokintaryhmään 3 kuuluvilla koirilla verrattuna kahteen muuhun ryhmään. Ryhmän 3 koirat olivat yhtä lukuunottamatta kuitenkin atooppikkoja, joten johtuuko havaittu ero ruokavaliosta vai sairaudesta ei voida varmuudella tietää. Rautaa saadaan lihasta ja sisäelimistä, joita todennäköisesti

raakaravintoa syövät koirat saavat runsaasti. Näin ollen olisi loogista ajatella, että havaittu ero ruokintaryhmien välillä voi todella aiheutua myös ravinnosta.

Kohtalainen ero terveiden ja sairaiden välillä havaittiin alfa-linoleenihapon ja dokosaheksaenihapon (omega-3-rasvahappoja) pitoisuuksissa. Tilastollisesti merkitsevä ero havaittiin palmitiinihapon (tydyttynyt rasvahappo), gamma-linoleenihapon sekä homogamma-linoleenihapon (omega-6-rasvahappoja) osalta. Palmitiinihapon ja dokosaheksaenihapon pitoisuudet olivat suuremmat terveillä koirilla, mutta gamma-linoleenihapon, homogamma-linoleenihapon ja alfa-linoleenihapon pitoisuudet olivat suuremmat atoopikoilla. Lisäksi homogamma-linoleenihapon pitoisuus veressä oli suurin pelkkää raakaruokaa syövillä koirilla ja pienin pelkkää prosessoitua teollista ruokaa syövillä koirilla. Kuten edellä jo todettiin, tutkimukseen osallistuneista koirista yli puolet saivat ravinnossaan säännöllistä rasvahappolisää, mikä vaikeuttaa tulosten tulkintaa. Kun tarkasteltiin erikseen vain sellaisia koiria, jotka eivät saaneet ravinnossaan säännöllistä rasvahappolisää, ei minkään tutkitun rasvahapon pitoisuuksissa havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa terveiden ja sairaiden koirien välillä (data ei esillä). Todennäköisesti havaitut eroavaisuudet johtuvat koirien saamista rasvahappolisista. Aihe vaatisi tarkempaa tutkimusta, jossa tutkittavien koirien ruokavalio olisi tarkemmin kontrolloitu.

Ravinto on yksilön terveyden perusta ja ravinnosta niin koira kuin ihminenkin saa ne rakennuspalikat, joita elimistö tarvitsee toimiakseen. Tämän lisensiaatin tutkimuksen tarkoituksena oli saada lisää tietoa eri ravintoaineiden ja atopian välisestä yhteydestä ja samalla vertailla koiran ruokavalion vaikutusta veren ravintoainepitoisuuksiin. Tutkimuksessa oli tiettyjä puutteita, kuten pieni otoskoko ja puuttuvia tuloksia, minkä takia tutkimuksen tuloksista voidaan tehdä johtopäätöksiä vain hyvin maltillisesti. Tutkimus antaa kuitenkin suuntaa tuleville tutkimuksille, joita voisivat olla esimerkiksi E-vitamiinin, raudan ja magnesiumin assosioituminen atopiaan koirilla sekä raakaruokinnan vaikutus koirien veren C- ja E-vitamiinipitoisuuteen.

6 VIITTEET

Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet. *J, Anim Physiol Anim Nutr.* 2005;89(3-6):203-7.

Bensignor E, Morgan DM, Nuttall T. Efficacy of an essential fatty acid-enriched diet in managing canine atopic dermatitis: A randomized, single-blinded, cross-over study. *Vet Dermatol.* 2008;19(3):156-62.

Bikle DD. Vitamin D and the skin: Physiology and pathophysiology. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012;13(1):3-19.

Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HFJ, O'Garra A. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4⁺ T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol.* 2001;167(9):4974-80

Britton J, Pavord I, Richards K, Knox A, Wisniewski A, Weiss Tattersfield SA. Dietary sodium intake and the risk of airway hyperreactivity in a random adult population. *Thorax.* 1994;49(9):875-80.

Brustad M, Alsaker E, Engelsen O, Aksnes L, Lund E. Vitamin D status of middle-aged women at 65-71°N in relation to dietary intake and exposure to ultraviolet radiation. *Public Health Nutr.* 2004;7(2):327-35.

Bäck O, Blomquist HK, Hernell O, Stenberg B. Does vitamin D intake during infancy promote the development of atopic allergy? *Acta Derm -Venereol.* 2009;89(1):28-32.

Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr.* 2002;87(SUPPL. 1):S31-48.

Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *AM J CLIN NUTR.* 1996;63(1):116-22.

Chervet L, Galichet A, McLean WHI, Chen H, Suter MM, Roosje PJ ym. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Exp Dermatol.* 2010;19(8):e343-6.

Dattner AM. Breastfeeding and atopic dermatitis: protective or harmful? facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2010;28(1):34-7.

Day MJ. Expression of Major Histocompatibility Complex Class II molecules by dermal inflammatory cells, epidermal langerhans cells and keratinocytes in canine dermatological disease. *J Comp Pathol.* 1996;115(4):317-26.

- DeBoer DJ, Hill PB. Serum immunoglobulin E concentrations in West Highland White Terrier puppies do not predict development of atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 1999;10(4):275-81.
- DeMora F, García G, Puigdemont A, Arboix M, Ferrer L. Skin mast cell releasability in dogs with atopic dermatitis. *Inflamm Res.* 1996;45(8):424-7.
- Devenny A, Wassall H, Ninan T, Omran M, Khan SD, Russell G. Respiratory symptoms and atopy in children in Aberdeen: Questionnaire studies of a defined school population repeated over 35 years. *Br Med J.* 2004;329(7464):489-90.
- Dunbar BL, Bigley KE, Bauer JE. Early and sustained enrichment of serum n-3 long chain polyunsaturated fatty acids in dogs fed a flaxseed supplemented diet. *Lipids.* 2010;45(1):1-10.
- Ertesvag A, Engedal N, Naderi S, Blomhoff HK. Retinoic acid stimulates the cell cycle machinery in normal T cells: Involvement of retinoic acid receptor-mediated IL-2 secretion. *J Immunol.* 2002;169(10):5555-63.
- Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol.* 2010;21(1):23-30.
- Fogarty A, Lewis S, Weiss S, Britton J. Dietary vitamin E, IgE concentrations, and atopy. *Lancet.* 2000;356(9241):1573-4.
- Freese Riitta ja Voutilainen Eeva. Vitamiinit ja kivennäisaineet sekä muut ravinnon yhdisteet. Teoksessa: Aro Antti, Mutanen Marja ja Uusitupa Matti (toim.) Ravitsemustiede. 4. p. painopaikka Keuruu Otavan Kirjapaino Oy, Kustannus Oy Duodecim Helsinki 2012
- Gale CR, Robinson SM, Harvey NC, Javaid MK, Jiang B, Martyn CN ym. Maternal vitamin D status during pregnancy and child outcomes. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(1):68-77.
- Geissmann F, Revy P, Brousse N, Lepelletier Y, Folli C, Durandy A ym. Retinoids regulate survival and antigen presentation by immature dendritic cells. *J Exp Med.* 2003;198(4):623-34.
- Glos K, Linek M, Loewenstein C, Mayer U, Mueller RS. The efficacy of commercially available veterinary diets recommended for dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2008;19(5):280-7.
- Griffin CE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): Clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):255-69.
- Gross KL, Wedekind KJ, Cowell CS, Schoenherr WD, Jewell DE, Zicker SC, Debraekeleer J, Frey RA. Nutrients. Teoksessa: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P (toim.) Small Animal Clinical Nutrition. 4.p. Mark Morris Institute, Kansas 2000: 21-105.

- Grüber C, Taner C, Mihály J, Matricardi PM, Wahn U, Rühl R. Serum retinoic acid and atopy among children of different ethnic origin living in Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54(4):558-60.
- Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;114(3-4):207-8.
- Halliwell REW, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): The role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):159-67.
- Hata TR, Kotol P, Jackson M, Nguyen M, Paik A, Udall D ym. Administration of oral vitamin D induces cathelicidin production in atopic individuals. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(4):829-31.
- Hill PB, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): Environmental allergens. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):169-86.
- Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): Incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):147-51.
- Hon K-E, Wang SS, Hung ECW, Lam HS, Lui HHK, Chow C- ym. Serum levels of heavy metals in childhood eczema and skin diseases: Friends or foes. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010;21(5):831-6.
- Hoppu U, Rinne M, Salo-Väänänen P, Lampi A-, Piironen V, Isolauri E. Vitamin C in breast milk may reduce the risk of atopy in the infant. *Eur J Clin Nutr.* 2005;59(1):123-8.
- How KL, Hazewinkel HAW, Mol JA. Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. *Gen Comp Endocrinol.* 1994;96(1):12-8.
- Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, DeBenedetto A ym. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(3 SUPPL. 2):R7-R12.
- Husemoen LLN, Toft U, Fenger M, Jørgensen T, Johansen N, Linneberg A. The association between atopy and factors influencing folate metabolism: Is low folate status causally related to the development of atopy? *Int J Epidemiol.* 2006;35(4):954-61.
- Hyppönen E, Sovio U, Wjst M, Patel S, Pekkanen J, Hartikainen A- ym. Infant vitamin D supplementation and allergic conditions in adulthood: Northern Finland birth cohort 1966. *Ann New York Acad Sci.* 2004;1037:84-95.
- Inman AO, Olivry T, Dunston SM, Monteiro-Riviere NA, Gatto H. Electron microscopic observations of stratum corneum intercellular lipids in normal and atopic dogs. *Vet Pathol.* 2001;38(6):720-3.

- James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1 SUPPL.):343S-8S.
- Javanbakht MH, Keshavarz SA, Djalali M, Siassi F, Eshraghian MR, Firooz A ym. Randomized controlled trial using vitamins E and D supplementation in atopic dermatitis. *J Dermatol Treat.* 2011;22(3):144-50.
- Javanbakht MH, Keshavarz SA, Mirshafiey A, Djalali M, Siassi F, Eshraghian MR ym. The effects of vitamins E and D supplementation on erythrocyte superoxide dismutase and catalase in atopic dermatitis. *Iran J Public Health.* 2010;39(1):57-63.
- Kalinin A, Marekov LN, Steinert PM. Assembly of the epidermal cornified cell envelope. *J Cell Sci.* 2001;114(17):3069-70.
- Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2001;357(9262):1076-9.
- Kim BE, Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clin Immunol.* 2008;126(3):332-7.
- Kovalik M, Thoday KL, Berry J, van den Broek AHM, Mellanby RJ. Prednisolone therapy for atopic dermatitis is less effective in dogs with lower pretreatment serum 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Vet Dermatol.* 2012;23(2):125-e28.
- Lian TM, Halliwell REW. Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998;66(3-4):203-23.
- Li-Weber M, Giaisi M, Treiber MK, Krammer PH. Vitamin E inhibits IL-4 gene expression in peripheral blood T cells. *Eur J Immunol.* 2002;32(9):2401-8.
- Madison KC. Barrier function of the skin: "La Raison d'Être" of the epidermis. *J Invest Dermatol.* 2003;121(2):231-41.
- Marsella R, Genovese D, Gilmer L, Ahrens K, Gatto H, Navarro C. Investigations on the effects of a topical ceramides-containing emulsion (allerderm spot on) on clinical signs and skin barrier function in dogs with topic dermatitis: A double-blinded, randomized, controlled study. *Int J appl res vet med.* 2013;11(2):110-6.
- Marsella R, Girolomoni G. Canine models of atopic dermatitis: A useful tool with untapped potential. *J Invest Dermatol.* 2009;129(10):2351-7.
- Marsella R, Olivry T, Carlotti D-. Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2011;22(3):239-48.
- Marsella R, Samuelson D, Harrington L. Immunohistochemical evaluation of filaggrin polyclonal antibody in atopic and normal beagles. *Vet Dermatol.* 2009;20(5-6):547-54.

- Marsella R, Sousa CA, Gonzales AJ, Fadok VA. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc.* 2012;241(2):194-207.
- Marsella R. Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG for the prevention of atopic dermatitis in dogs. *Am J Vet Res.* 2009;70(6):735-40.
- Marsh KA, Ruedisueli FL, Coe SL, Watson TDG. Effects of zinc and linoleic acid supplementation on the skin and coat quality of dogs receiving a complete and balanced diet. *Vet Dermatol.* 2000;11(4):277-84.
- Martindale S, McNeill G, Devereux G, Campbell D, Russell G, Seaton A. Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(2):121-8.
- Matsui EC, Matsui W. Higher serum folate levels are associated with a lower risk of atopy and wheeze. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(6):1253,1259.e2.
- McKeever TM, Lewis SA, Smit H, Burney P, Britton J, Cassano PA. Serum nutrient markers and skin prick testing using data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114(6):1398-402.
- Merryman-Simpson AE, Wood SH, Fretwell N, Jones PG, McLaren WM, McEwan NA ym. Gene (mRNA) expression in canine atopic dermatitis: Microarray analysis. *Vet Dermatol.* 2008;19(2):59-66.
- Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Hirota Y. Dairy food, calcium and vitamin D intake in pregnancy, and wheeze and eczema in infants. *Eur Respir J.* 2010;35(6):1228-34.
- Mueller RS, Fettman MJ, Richardson K, Hansen RA, Miller A, Mogowitz J ym. Plasma and skin concentrations of polyunsaturated fatty acids before and after supplementation with n-3 fatty acids in dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res.* 2005;66(5):868-73.
- Mueller RS, Fieseler KV, Fettman MJ, Zabel S, Rosychuk RAW, Ogilvie GK ym. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *J Small Anim Pract.* 2004;45(6):293-7.
- Mutanen Marja ja Uusitupa Matti. Ravinto, geenien toiminta, genomiikka ja epigenetiikka. Teoksessa: Aro Antti, Mutanen Marja ja Uusitupa Matti (toim.) Ravitsemustiede. 4. p. painopaikka Keuruu Otavan Kirjapaino Oy, Kustannus Oy Duodecim Helsinki 2012
- Mutanen Marja ja Voutilainen Eeva. Energiaravintoaineet, ravintokuitu ja alkoholi. Teoksessa: Aro Antti, Mutanen Marja ja Uusitupa Matti (toim.) Ravitsemustiede. 4. p. painopaikka Keuruu Otavan Kirjapaino Oy, Kustannus Oy Duodecim Helsinki 2012
- Noli C, Colombo S, Corneigliani L, Ghibaudo G, Persico P, Vercelli A ym. Quality of life of dogs with skin disease and of their owners. Part 2: Administration of a questionnaire in

various skin diseases and correlation to efficacy of therapy. *Vet Dermatol.* 2011;22(4):344-51.

Nødtvedt A, Bergvall K, Hedhammar Å, Egenvall A. Incidence of and risk factors for atopic dermatitis in a Swedish population of insured dogs. *Vet Rec.* 2006;159(8):241-6.

Nødtvedt A, Bergvall K, Sallander M, Egenvall A, Emanuelson U, Hedhammar A. A case-control study of risk factors for canine atopic dermatitis among boxer, bullterrier and West Highland white terrier dogs in Sweden. *Vet Dermatol.* 2007;18(5):309-15.

Oh S-, Chung J, Kim M-, Kwon SO, Cho B-. Antioxidant nutrient intakes and corresponding biomarkers associated with the risk of atopic dermatitis in young children. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(3):245-52.

Olivry T, Dean GA, Tompkins MB, Dow JL, Moore PF. Toward a canine model of atopic dermatitis: Amplification of cytokine- gene transcripts in the skin of atopic dogs (Ei tarvinne käyttää). *Exp Dermatol.* 1999;8(3):204-11.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T ym. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* 2010;21(3):233-48.

Olivry T, Hill PB. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): The controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):219-25.

Olivry T, Mueller R, Nuttall T, Favrot C, Prélard P. Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2008;19(3):115-9.

Olivry T, Saridomichelakis M, Nuttall T, Bensignor E, Griffin CE, Hill PB ym. Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol.* 2014;25(2):77-e25.

Olivry T. Is the skin barrier abnormal in dogs with atopic dermatitis? *Vet Immunol Immunopathol.* 2011;144(1-2):11-6.

Oren E, Banerji A, Camargo Jr. CA. Vitamin D and atopic disorders in an obese population screened for vitamin D deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(2):533-4

Paiva SAR, Russell RM, Dutta SK. β -carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr.* 1999;18(5):426-33.

Pasqualetti S, Banfi G, Mariotti M. The effects of strontium on skeletal development in zebrafish embryo. *J Trace Elem Med Biol.* 2013;27(4):375-9.

Peroni DG, Piacentini GL, Cametti E, Chinellato I, Boner AL. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and severity of atopic dermatitis in children. *Br J Dermatol*. 2011;164(5):1078-82.

Picco F, Zini E, Nett C, Naegeli C, Bigler B, Rüfenacht S ym. A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Vet Dermatol*. 2008;19(3):150-5.

Piekutowska A, Pin D, Rème CA, Gatto H, Haftek M. Effects of a Topically Applied Preparation of Epidermal Lipids on the Stratum Corneum Barrier of Atopic Dogs. *J Comp Pathol*. 2008;138(4):197-203.

Planková A, Mikuš P, Havránek E. Determination of selenium in clinical plasma samples related to atopic dermatitis study by chronopotentiometric stripping method. *Pharmazie*. 2010;65(5):327-30.

Plevnik Kapun A, Salobir J, Levart A, Kotnik T, Svete AN. Oxidative stress markers in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci*. 2012;92(3):469-70.

Plevnik Kapun A, Salobir J, Levart A, Tavcar Kalcher G, Nemec Svete A, Kotnik T. Plasma and skin vitamin E concentrations in canine atopic dermatitis: *Vet Q*. 2013;33(1):2-7.

Popa I, Pin D, Remoué N, Osta B, Callejon S, Videmont E ym. Analysis of epidermal lipids in normal and atopic dogs, before and after administration of an oral omega-6/omega-3 fatty acid feed supplement. A pilot study. *Vet Res Commun*. 2011b;35(8):501-9.

Popa I, Remoue N, Hoang LT, Pin D, Gatto H, Haftek M ym. Atopic dermatitis in dogs is associated with a high heterogeneity in the distribution of protein-bound lipids within the stratum corneum. *Arch Dermatol Res*. 2011a;303(6):433-40.

Prasad AS. Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. *J Infect Dis*. 2000;182(3 SUPPL. 1):S62-8.

Prélaud P, Guaguère E, Alhaidari Z et al. Reevaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis. *Revue de Médecine Vétérinaire* 1998; 149: 1057–64.

Ring J, Krämer U, Schäfer T, Behrendt H. Why are allergies increasing? *Curr Opin Immunol*. 2001;13(6):701-8.

Rojas AI, Phillips TJ. Patients with chronic leg ulcers show diminished levels of vitamins A and E, carotenes, and zinc. *Dermatol Surg*. 1999;25(8):601-4.

Roudebush P, Sousa CA, Logas DE. Skin and hair disorders. Teoksessa: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P (toim.) *Small Animal Clinical Nutrition*. 4.p. Mark Morris Institute, Kansas 2000: 455-474.

Sævik BK, Bergvall K, Holm BR, Saijonmaa-Koulumies LE, Hedhammar Å, Larsen S ym. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2004;15(3):137-45.

Santoro D, Marsella R, Ahrens K, Graves TK, Bunick D. Altered mRNA and protein expression of filaggrin in the skin of a canine animal model for atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2013;24(3):329-e73.

Saper RB, Rash R. Zinc: An essential micronutrient. *Am Fam Phys.* 2009;79(9):768-72.

Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Gioulekas D, Leontidis L. Canine atopic dermatitis in Greece: Clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999;69(1):61-73.

Scott DW, Miller Jr. WH, Reinhart GA, Mohammed HO, Bagladi MS. Effect of an Omega-3/Omega-6 Fatty Acid-Containing Commercial Lamb and Rice Diet on Pruritus in Atopic Dogs: Results of a Single-Blinded Study. *Can J Vet Res.* 1997;61(2):145-53

Scott, D.W., Miller Jr., W.H., Griffin, C.E., 2001. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th Edition. Saunders

Shaw SC, Wood JLN, Freeman J, Littlewood JD, Hannant D. Estimation of heritability of atopic dermatitis in Labrador and Golden Retrievers. *Am J Vet Res.* 2004;65(7):1014-20.

Shimada K, Yoon J-, Yoshihara T, Iwasaki T, Nishifuji K. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2009;20(5-6):541-6.

Sidbury R, Sullivan AF, Thadhani RI, Camargo Jr. CA. Randomized controlled trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in Boston: A pilot study (Käytetty). *Br J Dermatol.* 2008;159(1):245-7.

Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L ym. IL-31: A new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117(2):411-7.

Sousa CA, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): Genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81(3-4):153-7.

Sperling RI, Benincaso AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J CLIN INVEST.* 1993;91(2):651-60

Stoeckel K, Nielsen LH, Fuhrmann H, Bachmann L. Fatty acid patterns of dog erythrocyte membranes after feeding of a fish-oil based DHA-rich supplement with a

base diet low in n-3 fatty acids versus a diet containing added n-3 fatty acids. *Acta Vet Scand.* 2011;53(1).

Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J.* 1989;299(6710):1259-60.

Tanno O, Ota Y, Kitamura N, Katsube T, Inoue S. Nicotinamide increases biosynthesis of ceramides as well as other stratum corneum lipids to improve the epidermal permeability barrier. *Br J Dermatol.* 2000;143(3):524-31.

Theerawatanasirikul S, Sailasuta A, Thanawongnuwech R, Suriyaphol G. Alterations of keratins, involucrin and filaggrin gene expression in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci.* 2012;93(3):1287-92.

Thepen T, Langeveld-Wildschut EG, Bihari IC, Van Wichen DF, Van Reijssen FC, Mudde GC ym. Biphasic response against aeroallergen in atopic dermatitis showing a switch from an initial T(H2) response to a T(H1) response in situ: An immunocytochemical study. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL.* 1996;97(3):828-37.

Tizard Ian R. *Veterinary Immunology: an Introduction.* 8.p. Saunders, Missouri 2009.

Toyran M, Kaymak M, Vezir E, Harmanci K, Kaya A, Ginis T ym. Trace element levels in children with atopic dermatitis. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2012;22(5):341-4.

Tricon S, Willers S, Smit HA, Burney PG, Devereux G, Frew AJ ym. Nutrition and allergic disease. *Clin Exp Allergy Suppl Rev.* 2006;6(5):117-88.

Tsoureli-Nikita E, Hercogova J, Lotti T, Menchini G. Evaluation of dietary intake of vitamin E in the treatment of atopic dermatitis: A study of the clinical course and evaluation of the immunoglobulin E serum levels. *Int J Dermatol.* 2002;41(3):146-50.

van der Heijden FL, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. High frequency of IL-4-producing CD4+ allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin. *J Invest Dermatol.* 1991;97(3):389-94.

Wang IJ, Guo YL, Weng HJ, Hsieh WS, Chuang YL, Lin SJ ym. Environmental risk factors for early infantile atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2007;18(5):441-7.

Watson AL, Fray TR, Bailey J, Baker CB, Beyer SA, Markwell PJ. Dietary constituents are able to play a beneficial role in canine epidermal barrier function. *Exp Dermatol.* 2006;15(1):74-81.

Willemse T. Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *Journal of Small Animal Practice* 1986; 27: 771–8.

Willers SM, Devereux G, Craig LCA, McNeill G, Wijga AH, Abou El-Magd W ym. Maternal food consumption during pregnancy and asthma, respiratory and atopic symptoms in 5-year-old children. *Thorax.* 2007;62(9):772-8.

Wood SH, Clements DN, Ollier WE, Nuttall T, McEwan NA, Carter SD. Gene expression in canine atopic dermatitis and correlation with clinical severity scores. *J Dermatol Sci.* 2009;55(1):27-33.

Wood SH, Ollier WE, Nuttall T, McEwan NA, Carter SD. Despite identifying some shared gene associations with human atopic dermatitis the use of multiple dog breeds from various locations limits detection of gene associations in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010;138(3):193-7.

Woods RK, Walters EH, Raven JM, Wolfe R, Ireland PD, Thien FCK ym. Food and nutrient intakes and asthma risk in young adults. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(3):414-21.

Yamada T, Saunders T, Kuroda S, Sera K, Nakamura T, Takatsuji T ym. Cohort study for prevention of atopic dermatitis using hair mineral contents. *J Trace Elem Med Biol.* 2013;27(2):126-31.

Zur G, Skorinsky I, Bdolah-Abram T. Canine atopic dermatitis in the Middle East: Clinical signs, signalment and common allergens. *Vet Med.* 2012;57(8):410-9.